Statistische Untersuchungen über verschiedene Nachweismethoden der Serumcholinesteraseaktivität (spektrophotometrische Methode nach Kalow; Papierstreifentests: Acholest, Merckotest; Suchtest der atypischen Serumcholinesterasevariante nach Swift und La Du).

Hans-Dieter Ahlemeyer

1968

AUS DER ANÄSTHESIEABTEILUNG (Leiter Priv.Doz. Dr.A.Doenicke)

DER CHIRURGISCHEN POLIKLINIK
DER UNIVERSITÄT MÜNCHEN

Direktor: Prof. Dr. F.Holle

Statistische Untersuchungen über verschiedene Nachweismethoden der Serumcholinesteraseaktivität (spektrophotometrische Methode nach Kalow; Papierstreifentests: Acholest, Merckotest; Suchtest der atypischen Serumcholinesterasevariante nach Swift und La Du).

Inaugural-Dissertation

zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und
einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von

Hans-Dieter Ahlemeyer

München
1969

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Priv.Doz. Dr. A.Doenicke
Mitberichterstatter: Prof. Dr. F.Holle
Dekan: Prof. Dr. F.Marguth

Tag der mündlichen Prüfung: 3. Dezember 1968

Inhaltsverzeichnis

A. Einleitung

B. Bestimmungsmethoden der Serumcholinesteraseaktivität und Methodik der angewandten Verfahren.

C. Ergebnisse:

I. Methodische Meßfehler der getesteten Methoden

II. Spezielle Untersuchungen zum Merckotestverfahren

III. Statistische Untersuchungen mit Normalseren:

a) Untersuchungsgut und Untersuchungsgang

b) Physiologische Schwankungsbreite der SChE-Aktivität

c) Prüfung der gefundenen Meßwerte auf Normalverteilung

d) Korrelation der einzelnen Bestimmungsmethoden untereinander

e) Regressionsberechnungen:

1.) Empirische Regressionsgeraden

2.) Beziehung der Meßwerte der Testpapiermethoden zu den Meßwerten der Kalowmethode

IV. Statistische Untersuchungen mit pathologischen Seren

V. Differenzierung der verschiedenen Gentypen mit dem Hemmtest nach Kalow und dem Suchtest nach Swift und La Du

D. Diskussion

E. Zusammenfassung

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41545804_0118

A. Einleitung:

Die Cholinesterasen sind charakterisiert durch eine besondere Affinität zu den Estern des Cholins. Sie spalten Cholinester schneller als andere Ester.

Seit den Arbeiten von G.A.Alles und R.C.Hawes 194o (1), B. Mendel 1943 (27, 28), D. Richter und P.G. Croft 1943 (32) unterscheidet man zwei Gruppen von Cholinesterasen:

a) die Acetylcholinesterasen (echte Cholinesterasen, Erythrocytenesterasen),

b) die Serumcholinesterasen (Pseudocholinesterasen, Plasmacholinesterasen, unspezifische Esterasen).

Die Acetylcholinesterase kommt vor im leitenden Gewebe und in den Erythrocytenmembranen. Ihr physiologisches Substrat ist das Acetylcholin. Dieses wird von ihr schneller umgesetzt als andere Cholinester. Butyrylcholin und vor allem Benzoylcholin werden von der Acetylcholinesterase nur in geringem Maße gespalten.

Die Serumcholinesterase wird in den Leberparenchymzellen gebildet und ins Blut sezerniert /Gürtner,Kreutzberg und Doenicke (11)/. Bemerkenswert ist eine Korrelation der SChE-Aktivität zur Albuminsynthese. Ein größerer Albuminverlust bewirkt sowohl eine Steigerung der Albumin-, als auch der Cholinesterasesynthese in den Leberparenchymzellen /Stefenelli (37)/.

H.Haupt et al. (14) konnten aus Humanseren ein hochgereinigtes SChE-Präperat herstellen, das gegenüber normalem Serum eine 1o.ooofache Fermentaktivität besaß. Aus diesen Untersuchungen geht hervor, daß die SChE ein Glykoproteid ist (9,3 % Hexosen; 8,4 % Acetylhexosamin; 6 % Acetylneuraminsäure), ihren isoelektrischen Punkt bei pH 3,o hat und ein Molekulargewicht von 348.ooo besitzt. Der immunologisch im Serum bestimmte SChE-Gehalt liegt bei o,9 mg Enzym pro 1oo ml Serum.

In der Stärkegel-Elektrophorese findet man nach Färbung mit Indoxylacetat neben der Hauptkomponente C_4 drei schneller wandernde Komponenten C_1, C_2, C_3, die bei anderen Trennverfahren die gleiche

α_2/β_1 - Beweglichkeit wie die Hauptkomponente besitzen. Haupt et al. nehmen an, daß es sich bei diesen Nebenkomponenten um Spaltprodukte der SChE handelt. Die Substratspezifität der SChE ist bedeutend weniger ausgeprägt als die der Acetylcholinesterase. Fast alle von der Acetylcholinesterase umgesetzten Substrate werden auch von der SChE gespalten. Charakteristisch für die SChE ist der schnelle Abbau von Butyryl- und Benzoylcholin, Substrate, die von der Acetylcholinesterase nur in geringem Maße gespalten werden.

Während die Spaltungsaktivität der Acetylcholinesterase durch eine Acetylcholinkonzentration von $1o^{-2}$ Mol Acetylcholin/ml Serum stark gehemmt wird, findet man bei der SChE keine Hemmung der Enzymaktivität durch Überschuß an Acetylcholin [Breuer und Schönfelder (3)]. Bei einer Konzentration von $1o^{-1}$ Mol Acetylcholin/ml Serum setzt die SChE mehr als das Dreifache an Acetylcholin in der Zeiteinheit um als die Acetylcholinesterase.

E. Werle et al. untersuchten 1942 (42) und 1949 (41) die Beeinflussung der SChE-Aktivität durch Kallikreinpräparate und durch Histamin. Zahlreiche Hemmstoffe der SChE sind seitdem entdeckt worden. (21, 26, 15). Die stärksten Inhibitoren sind zur Zeit die Polyalkylphosphate, wie z.B. TEPP, DFP, E 6o5. Weitere starke Hemmstoffe sind Physostigmin, Neostigmin, LSD 25, Chlorpromazin, Endoxan, Tetracain, Procain, Decamethonium, Dibucain und Fluorid. Die Inhibitoren Dibucain und Fluorid werden heute zur Differenzierung von Enzymvarianten der SChE verwendet.

Nach Goedde et al. (9) werden folgende genetische Varianten der SChE unterschieden:

	Genotypus	Phänotypus	Name
Homozygote:	$Ch_1^U Ch_1^U$	Ch_1UU	normales Enzym
	$Ch_1^D Ch_1^D$	Ch_1DD	dibucainresistente Enzymvariante
	$Ch_1^F Ch_1^F$	Ch_1FF	fluoridresistente Enzymvariante
	$Ch_1^S Ch_1^S$	Ch_1SS	"silent gene"-Enzymvariante

	Genotypus	Phaenotypus
Heterozygote:	$Ch_1^UCh_1^D$	Ch_1UD
	$Ch_1^UCh_1^F$	Ch_1UF
	$Ch_1^UCh_1^S$	Ch_1US
	$Ch_1^DCh_1^F$	Ch_1DF
	$Ch_1^DCh_1^S$	Ch_1DS
	$Ch_1^FCh_1^S$	Ch_1FS

Unter Ch_1^U, Ch_1^D, Ch_1^F, Ch_1^S sind Allele eines autosomalen Genortes zu verstehen, wobei noch ungeklärt ist, ob das Allel Ch_1^S genetisch gesehen einheitlich ist, d.h. nur ein einziges Allel darstellt.

Für die einzelnen Phaenotypen gelten nach Untersuchungen von Goedde et al. (9) folgende mittlere Aktivitäten ($\bar{A}$), mittlere Fluoridnumbers ($F\bar{N}$), Dibucainnumbers (DN) und Häufigkeiten:

Phaenotyp	$\bar{A}$	DN	$F\bar{N}$	Häufigkeit
homozygot:				
Ch_1UU	95 $\frac{Ex1ooo}{3\ min}$	7o-1oo	61	ca. 96 %
Ch_1DD	38 "	12- 3o	23	ca. o,o5 %
Ch_1FF		66	35	sehr selten
Ch_1SS	o "	o	o	ca. o,oo1 %
heterozygot:				
Ch_1UD	57 $\frac{Ex1ooo}{3\ min}$	43- 7o	48	ca. 3,6 %
Ch_1US	53 "	8o	6o	selten
Ch_1UF	62 "	74	52	sehr selten
Ch_1DF	-	49	35	sehr selten
Ch_1DS	18 "	21	24	sehr selten
Ch_1FS	-	-	-	bisher nicht gefunden

Eine besondere klinische Bedeutung hat die dibucainresistente Enzymvariante (Ch_1DD). Da nicht nur ihre enzymatische Aktivität auf die Hälfte reduziert, sondern auch ihre Affinität zu Succinyldicholin stark herabgesetzt ist, treten bei Patienten mit dieser Enzymvariante stets verlängerte Apnoen nach Succinyldicholinapplikation auf.

Auch bei den Phaenotypen Ch_1SS und Ch_1DS ist stets mit einer verlängerten Apnoe nach Succinyldicholinapplikation zu rechnen. Außerdem wurden gering verlängerte Apnoen beobachtet bei den Phaenotypen Ch_1FD und Ch_1FF.

Doenicke, Schmidinger und Krumey (8) haben jetzt mit einem stark gereinigten SChE-Präperat die Bedeutung der SChE im Stoffwechsel des Succinyldicholin genau untersucht. Bei Versuchen mit Freiwilligen konnten sie zeigen, daß durch Gabe von 3o mg gereinigter SChE die Apnoeperiode nach Injektion von 5o - 2oo mg Succinyldicholin signifikant verkürzt wird. Die Apnoeperiode nach Injektion von 5o mg Succinyldicholin wurde dabei durch 3o mg gereinigter SChE fast völlig neutralisiert.

Die Bestimmung der SChE-Aktivität und die Erfassung atypischer Enzymvarianten ist für die Klinik von großer Bedeutung. Sie sollte nach Untersuchungen von Holle et al. (17, 18) und nach Untersuchungen von Doenicke et al. (5 , 6) stets vor Operationen durchgeführt werden, um Aufschluß über die Leistungsfähigkeit und Belastbarkeit der Leber zu erhalten, und um Patienten, die mit einer verlängerten Apnoe auf Succinyldicholin reagieren, vor Narkosen rechtzeitig zu erfassen.

Während bei Leberparenchymschäden (Leberzirrhose, Lebermetastasen, toxische Leberschädigungen usw.) die SChE-Aktivität deutlich erniedrigt ist, findet man bei Hyperthyreosen, Nephrosen (Albuminverlust), Leberverfettung in der Regel erhöhte SChE-Aktivitätswerte (1o, 8).

In der folgenden Untersuchung werden Parallelbestimmungen der SChE-Aktivität mit der spektrophotometrischen Methode nach Kalow, den Papierstreifentests Acholest und Merckotest und mit dem Suchtest nach Swift und La Du durchgeführt und statistisch ausgewertet.

Durch speziellen statistischen Vergleich der exakten Meßwerte der Kalowmethode mit den Meßwerten der Testpapiermethoden wird insbesondere die Brauchbarkeit der Testpapierstreifenverfahren, vor allem der klinisch noch wenig erprobten Merckotestmethode, zur SChE-Aktivitätsbestimmung geprüft.

B. Bestimmungsmethoden der SChE-Aktivität und Methodik der angewandten Verfahren:

Die enzymatische Aktivität der SChE kann auf verschiedene Arten bestimmt werden:

1. Durch direkte Titration der bei der enzymatischen Spaltung der Cholinester freiwerdenden Säuremenge /z.B. Methode nach Hargreaves und Da Silva (13)_7.

2. Durch elektrometrische Meßung der freiwerdenden Säuremenge /z.B. Methode nach Michel (3o)_7.

3. Manometrisch durch Meßung der von der freiwerdenden Säure aus einem Bicarbonatpuffer freigesetzten Menge CO_2 /z.B. Methode nach Ammon (2)_7.

4. Mit einem Farbindikatorpapier /z.B. Testpapiermethode Acholest (34), Testpapiermethode Merckotest (12)_7.

5. Durch quantitative colorimetrische Bestimmung
   a) der freiwerdenden Säuremenge /Methode nach Molander, Friedmann und La Du (31)_7,
   b) der nicht gespaltenen Acetyl- oder Benzoylcholinmenge /z.B. Methode von Hestrin (16), Methode von Metcalf(29), Methode nach de la Huerga, Yesinick und Popper (19)_7.

6. Knedel und Böttger (24) berichten über eine kinetische Methode. Aus Butyrylthiocholinjodid enzymatisch abgespaltenes Thiocholin bildet mit 5,5-Dithiobisnitrobenzoat den gelben Farbstoff 5-Mercapto-2-nitrobenzoat, der ein Absorptionsmaximum bei 412 mμ hat. Aus der Geschwindigkeit der Farbänderung ergibt sich die Cholinesteraseaktivität.

7. Nach Kalow und Lindsay (23) wird der Abbau des Substrates Benzoylcholin durch die Abnahme der Extinktion bei einer Wellenlänge von 24o mμ gemessen. Benzoylcholin zeigt bei 24o mμ eine starke Absorption, während die Spaltprodukte Cholin und Benzoesäure bei dieser Wellenlänge nur eine geringe Absorption aufweisen. Die Methode nach Kalow wird von vielen Autoren als eine der genauesten Bestimmungsmethoden der SChE-Aktivität angesehen.

Die atypischen SChE-Varianten werden durch Bestimmung der Dibucainzahl nach Kalow und Genest (22) erfaßt. Dabei werden die Aktivitäten der SChE ohne Hemmung und mit Hemmung durch Dibucain gemessen und in Beziehung zueinander gesetzt.

Ein Suchtest für die atypischen SChE-Varianten ist von Swift und La Du (38) angegeben worden. Der Test beruht auf der Beobachtung von Callahan und La Du, daß die Aktivität der normalen SChE durch NaCl erhöht wird, während die Aktivität der dibucainresistenten SChE-Varianten nicht beeinflußt wird.

Methodik der angewandten Verfahren:

a) Spektrophotometrische Bestimmung der SChE-Aktivität und der Dibucainzahl (DN) nach Kalow:

α) Bestimmung der SChE-Aktivität

Lösungsmittel: o,o667 M Phosphatpuffer, pH 7,4 (26°C)
(47,213 g $Na_2HPO_4x2H_2O$ + 9,o78 g KH_2PO_4 in 5 l dest.Wasser)

Lösungen:

I. Substrat: $2x1o^{-4}$ M Benzoylcholinchlorid
(2,437 mg Benzoylcholinchlorid in 1oo ml Lösungsmittel)

II. Enzym: Serum (1:1oo) verdünnt

Testansatz: 1,o ml Lösungsmittel +
1,o ml Lösung I +
2,o ml Lösung II
T = 26°C

Testdauer: 3 Minuten

Der Test wird in Quarzküvetten (1o mm Lichtweg) bei 24o mμ im Beckmann-DU-Photometer bei 26°C durchgeführt. Die Absorption des Serums wird mit Hilfe einer O-Küvette eliminiert (Serum 1:2oo in Lösungsmittel).
Die Enzym-Aktivität ergibt sich durch Multiplikation der ΔE-Werte über 3 Minuten bei 26°C mit dem Faktor 1ooo.
Zur Vermeidung von Temperaturschwankungen werden temperierbare Küvettenhalter verwendet. Reaktionen zwischen 2o° und 26°C können auf die Reaktion bei 26°C bezogen werden durch die Formel:

$$o,o283\ (t_2-t_1) = v_2:v_1$$

(t_2=26°C, t_1 = Reaktionstemperatur, v_2 =ΔE bei 26°C, v_1 = ΔE bei t_1°C)

β) Bestimmung der Dibucainzahl (DN)

Lösungsmittel: o,o667 M Phosphatpuffer, pH 7,4 (26°C)

Lösungen:

I. Substrat: Benzoylcholinchlorid $2x1o^{-4}$ M
II. Inhibitor: Dibucain-Hydrochlorid $4x1o^{-5}$ M
III. Enzym: Serum 1:1oo verdünnt

Testansatz für die Reaktion ohne Inhibitor:

1,o ml Lösungsmittel +
1,o ml Lösung I +
2,o ml Lösung III

Testansatz für die Reaktion mit Inhibitor:

1,o ml Lösung I +
1,o ml Lösung II +
2,o ml Lösung III

Bei beiden Ansätzen werden die Extinktionsdifferenzen ΔE zwischen der 1. und 4. Minute bei 24o mμ gemessen. Wichtig ist, daß beide Reaktionen bei gleicher Temperatur durchgeführt werden bzw. die Extinktionsdifferenzen ΔE auf die gleiche Temperatur umgerechnet werden.

Die Dibucainzahl (DN) ergibt sich durch Einsetzen der gefundenen Werte in die Gleichung

$$DN = 1oo \left(1 - \frac{\Delta E \text{ mit Dibucainzusatz}}{\Delta E \text{ ohne Dibucainzusatz}}\right)$$

b) Testpapiermethode Acholest:

Prinzip der Methode:
Testpapierstreifen sind mit einem Cholinester und einem pH-Indikator (saures pH gelb, neutrales bzw. alkalisches pH blau) imprägniert. Die SChE hydrolysiert den Cholinester zu Cholin und Säure. Die freiwerdende Säure bewirkt einen Farbumschlag des Indikators von Blau über Grün zu Gelb. Besonders präparierte Vergleichsstreifen nehmen unmittelbar nach Kontakt mit dem Serum einen konstanten gelbgrünen Farbton an. Die Zeitdifferenz zwischen Kontakt des Serums mit dem Testpapierstreifen und Eintreten der Farbgleichheit von Testpapier und Vergleichsstreifen wird als Maß für die Aktivität der SChE angegeben.

Durchführung des Tests:
Es werden benötigt:
1) ein halber Acholest-Testpapierstreifen,
2) ein halber Vergleichsstreifen,
3) zwei Objektträger,
4) eine Mikropipette (o,o5 ml),
5) eine Pinzette,
6) eine Schere,
7) eine Stoppuhr.

Auf einem sauberen Objektträger, den man sich in zwei gleiche Hälften geteilt denkt, werden jeweils in deren Mittelpunkt genau je o,o5 ml Serum aufgetragen. Auf den einen Tropfen wird mit einer Pinzette ein halber Vergleichsstreifen, auf den anderen Tropfen ein halber Testpapier-streifen gelegt. Gleichzeitig wird die Stoppuhr in Betrieb gesetzt. Dann wird ein zweiter Objektträger darübergelegt, um eine gleichmäßige Verteilung der Flüssigkeit zu erreichen und ein zu schnelles Austrocknen der Teststreifen zu vermeiden. Eventuell vorhandene Luftbläschen werden durch mehrmaliges leichtes Andrücken der Objektträger beseitigt. Wenn der Testpapierstreifen den Farbton des Vergleichsstreifens erreicht hat, wird die Uhrzeit notiert, und der Test ist beendet.

c) Testpapiermethode Merckotest:

Prinzip der Methode:
Testpapierstreifen sind mit dem Substrat Acetylcholin und den Indikatoren Phenolrot und Naphtholphthalein imprägniert. Bei Inkubation der Testpapierstreifen mit dem zu testenden Serum spaltet die SChE das Acetylcholin in Cholin und Essigsäure. Die freiwerdende Säure bewirkt einen Farbumschlag der Indikatoren von Violett über Rot und Orange nach Gelb. Mit einem geeichten, kontinuierlichen Farbband wird nach einer bestimmten Inkubationszeit die Farbänderung des Testpapierstreifens abgelesen. Der Betrag der Farbänderung ist ein Maß für die Aktivität der SChE.

Die gedruckten Farbbänder des Merckotestverfahrens sind so geeicht, daß sie nach einer Inkubationszeit von 6 Minuten die SChE-Aktivität in internationalen Enzymeinheiten (U) pro ml Serum angeben. Unter einer internationalen Enzymeinheit (U) wird die Enzymmenge verstanden, die in einer Minute 1 μMol Substrat umsetzt.

Durchführung des Tests:
Es werden benötigt:

1) ein Merckotest-Reagenzpapierstreifen,
2) eine Testplatte,
3) ein Objektträger,
4) eine Mikropipette,
5) eine Pinzette,
6) eine Stoppuhr.

In die Vertiefung der Testplatte wird bei Zimmertemperatur (2o - 22°C) ein Tropfen Serum aufgetragen. Auf den Serumtropfen wird ein Reagenzpapierstreifen und darüber ein Objektträger gelegt. Die Farbe des Reagenzpapierstreifens wird mit dem Farbband verglichen und die Zahl F_1 der im Farbton am besten übereinstimmenden Farbstufe notiert. Nach genau 6 min wird der Farbvergleich wiederholt und die Zahl F_2 der entsprechenden Farbstufe

abgelesen. Die Differenz F_2-F_1 gibt die SChE-Aktivität in internationalen Enzymeinheiten pro ml Serum an.

Verlängert man die Inkubationszeit auf 8 min und macht dann den Farbvergleich, wobei F_3 die Zahl der abgelesenen Farbstufe sein möge, dann ist zwar die Differenz F_3-F_1 auch ein Maß für die SChE-Aktivität, sie gibt aber den SChE-Gehalt nicht mehr in internationalen Enzymeinheiten an. Im folgenden wird die Testpapiermethode mit der Inkubationszeit von 6 min als Δ_6-Merckotestmethode und die Testpapiermethode mit der Inkubationszeit von 8 min als Δ_8-Merckotestmethode bezeichnet.

Vor Durchführung der Messungen mit den Papierstreifenmethoden ist darauf zu achten, daß das Serum nicht hämolytisch ist, da die im hämolytischen Serum vorhandene Acetylcholinesterase das Meßergebnis beeinflussen würde. Außerdem verändert das Hämoglobin die Pufferkapazität des Serums.

d) Suchtest der atypischen SChE-Varianten nach Swift und La Du:

Prinzip:

o,1 M NaCl erhöht in o,ooo67 M THAM-Puffer die Aktivität der normalen SChE 2- bis 3-fach, die Aktivität der dibucainresistenten Enzymvariante wird dagegen nicht beeinflusst.

Der Suchtest von Swift und La Du beruht nun auf dem Vergleich der enzymatischen Aktivität der SChE in zwei Reagenzgläsern A und B, die beide den Indikator Phenolrot, das Substrat Benzoylcholinchlorid und das zu testende Serum enthalten. Das Reagenzglas B enthält außerdem noch o,125 M NaCl. Um den Test empfindlicher zu machen, wird als Lösungsmittel nicht Pufferlösung sondern Aqua dest. verwendet.
Da die enzymatische Aktivität der dibucainresistenten SChE-Variante durch o,125 M NaCl nicht verändert wird, bleibt der Inhalt der

Reagenzgläser A und B bei Seren mit dieser Enzymvariante während der ganzen Testzeit farbgleich. Fast alle anderen Seren (s.u.) zeigen in dem Reagenzglas B, das o,125 M NaCl enthält, eine größere SChE-Aktivität als im Reagenzglas A und damit auch einen schnelleren Farbwechsel des Indikators Phenolrot von Rosa nach Gelb.

Durchführung des Tests:
Lösungsmittel: Aqua dest.
Lösungen: I) 5 mg/ml Phenolrot
II) 5 M NaCl
III) 2×10^{-2} M Benzoylcholinchlorid
IV) o,1 M NaOH
V) Serum 1:1o verdünnt

Für 25 Messungen werden 1oo ml der folgenden Lösung hergestellt:
VI) o,5o ml Lösung I
o,25 ml Lösung III
Aqua dest. ad 1oo,o ml
Der pH-Wert dieser Lösung wird mit o,1 M NaOH auf ungefähr 7,8 eingestellt. Die Lösung VI muß verschlossen aufbewahrt werden, das CO_2 der Luft den pH-Wert verändert.

In zwei Reagenzgläser A und B werden die folgenden Lösungen gegeben:

A: 2,oo ml Lösung VI +
o,1o ml Lösung V

B: o,o5 ml Lösung II +
2,oo ml Lösung VI +
o,1o ml Lösung V

Die Reagenzgläser sollen bei Testbeginn sofort verschlossen und geschüttelt werden; außerdem müssen sie in diesem Stadium die gleiche Farbe (rosa) haben.

Der Test ist als negativ zu bewerten, wenn nach 5 - 8 Minuten Reaktionszeit ein Farbunterschied zwischen beiden Reagenzlösungen aufgetreten ist, in dem Sinne, daß die Reagenzlösung B heller ist als die Reagenzlösung A.

Ist nach dieser Zeit kein Farbunterschied aufgetreten, wird weitere 1o min gewartet. Falls auch dann die Farben der beiden Reagenzlösungen A und B noch gleich sind, wird der Test als positiv bewertet. In allen zweifelhaften und positiven Fällen sollte der Test zur Sicherheit mehrmals durchgeführt werden.

Der Suchtest fällt nach Swift und La Du positiv aus bei:

1) der dibucainresistenten SChE-Variante (Phaenotyp Ch_1DD),

2) allen Seren mit sehr niedriger SChE-Aktivität. Hier kommen in Frage:

   α) Seren von Patienten mit schweren Leberparenchymschäden,

   β) die Phaenotypen Ch_1SS und Ch_1SD.

   γ) Auch bei anderen intermediären Seren kann der Test positiv ausfallen, falls die SChE-Aktivität dieser Seren sehr niedrig ist.

Die Patienten,bei denen der Suchtest positiv ausfällt, reagieren gewöhnlich mit einer verlängerten Apnoe nach Succinylcholin-applikation. Drei sehr seltene Phaenotypen, die auch mit einer verlängerten Apnoe nach Succinylcholinapplikation reagieren können, werden mit dem Test nach Swift und La Du nicht erfaßt. Es sind dies die Phaenotypen Ch_1FF, Ch_1FS und Ch_1FD.

C. Ergebnisse:

I. Methodische Meßfehler der getesteten Methoden:

Mit jeder der getesteten Methoden wurden an zehn verschiedenen Seren Dreifachbestimmungen durchgeführt und jeweils der mittlere quadratische Meßfehler berechnet. Zur Darstellung des mittleren methodischen Meßfehlers wurde dann das arithmetische Mittel der einzelnen mittleren quadratischen Fehler gebildet.

a) Spektrophotometrische Methode nach Kalow

$\bar{k}_1$=1o2,o	$\bar{k}_2$= 92,7	$\bar{k}_3$= 82,7	$\bar{k}_4$= 89,7	$\bar{k}_5$=1o9,o
$S_{k_1}=\pm1,o$ $=\pm1,o\%$	$S_{k_2}=\pm2,3$ $=\pm2,6\%$	$S_{k_3}=\pm1,9$ $=\pm2,3\%$	$S_{k_4}=\pm o,6$ $=\pm o,7\%$	$S_{k_5}=\pm2,6$ $=\pm2,4\%$

$\bar{k}_6$= 83,3	$\bar{k}_7$=114,3	$\bar{k}_8$=11o,o	$\bar{k}_9$=126,o	$\bar{k}_{1o}$=142,o
$S_{k_6}=\pm1,5$ $=\pm1,8\%$	$S_{k_7}=\pm2,1$ $=\pm1,8\%$	$S_{k_8}=\pm2,o$ $=\pm1,8\%$	$S_{k_9}=\pm1,o$ $=\pm o,8\%$	$S_{k_{1o}}=\pm1,o$ $=\pm o,7\%$

$\bar{k}_i$= Mittelwert der Aktivitätsbestimmungen für das i-te Serum

S_{k_i}= zugehöriger mittlerer quadratischer Meßfehler.

Aus den Messungen folgt:

Größter mittlerer quadratischer Meßfehler:

$S_{k_{max}}=\pm2,6$ (ΔEx1ooo/3min bei 26°C)

Größter prozentualer mittlerer quadr.Meßfehler:

$S_{k_{max\%}}=\pm2,6\%$

Mittlerer methodischer Meßfehler:

$\bar{S}_k = \pm 1{,}6$ / $\bar{\Delta}$Ex1000/3 min bei 26°C /

$\bar{S}_{k\%} = \pm 1{,}6$ %

b) Testpapiermethode Acholest

$\bar{a}_1$=20,7	$\bar{a}_2$= 8,2	$\bar{a}_3$=11,3	$\bar{a}_4$= 8,5	$\bar{a}_5$=10,8,
$S_{a_1} = \pm 1{,}53$	$S_{a_2} = \pm 0{,}29$	$S_{a_3} = \pm 0{,}29$	$S_{a_4} = \pm 0{,}50$	$S_{a_5} = \pm 0{,}76$
$= \pm 7{,}5\%$	$= \pm 3{,}9\%$	$= \pm 2{,}6\%$	$= \pm 5{,}9\%$	$= \pm 7{,}1\%$

$\bar{a}_6$= 9,0	$\bar{a}_7$=14,3	$\bar{a}_8$=10,3	$\bar{a}_9$=13,5	$\bar{a}_{10}$=9,2
$S_{a_6} = \pm 0{,}50$	$S_{a_7} = \pm 0{,}58$	$S_{a_8} = \pm 0{,}58$	$S_{a_9} = \pm 0{,}87$	$S_{a_{10}} = \pm 0{,}29$
$= \pm 5{,}69\%$	$= \pm 4{,}0\%$	$= \pm 5{,}6\%$	$= \pm 6{,}4\%$	$= \pm 3{,}2\%$

$\bar{a}_i$ = Mittelwert der Aktivitätsbestimmungen für das i-te Serum

S_{a_i} = zugehöriger mittlerer quadratischer Meßfehler

Aus den Messungen folgt:

Größter mittlerer quadratischer Meßfehler:

$S_{a,max} = \pm 1{,}5$ / $\bar{}$min /

Größter prozentualer mittlerer quadr.Meßfehler:

$S_{a,max\%} = \pm 7{,}5$ %

Mittlerer methodischer Meßfehler:

$\bar{S}_a = \pm 0{,}62$ / $\bar{}$min /

$\bar{S}_{a\%} = \pm 5{,}2$ %

) Testpapiermethode Merckotest

1.) Δ_6-Merckotestmethode

$\bar{\Delta}_{6_1}$ =3,37	$\bar{\Delta}_{6_2}$ =5,17	$\bar{\Delta}_{6_3}$ =5,o	$\bar{\Delta}_{6_4}$ =5,o	$\bar{\Delta}_{6_5}$ =5,o
$S_{\Delta_{6_1}}$ $=\pm$o,16 $=\pm$4,6%	$S_{\Delta_{6_2}}$ =o,29 $=\pm$5,8%	$S_{\Delta_{6_3}}$ $=\pm$o,5 $=\pm$1o%	$S_{\Delta_{6_4}}$ $=\pm$o,5 $=\pm$1o%	$S_{\Delta_{6_5}}$ $=\pm$o,o $=\pm$0 %

$\bar{\Delta}_{6_6}$ =5,33	$\bar{\Delta}_{6_7}$ =4,9	$\bar{\Delta}_{6_8}$ =5,5	$\bar{\Delta}_{6_9}$ =4,7	$\bar{\Delta}_{6_{1o}}$ =5,6
$S_{\Delta_{6_6}}$ $=\pm$o,29 $=\pm$5,4%	$S_{\Delta_{6_7}}$ $=\pm$o,36 $=\pm$7,3%	$S_{\Delta_{6_8}}$ $=\pm$o,5 $=\pm$9,1%	$S_{\Delta_{6_9}}$ $=\pm$o,41 $=\pm$8,7%	$S_{\Delta_{6_{1o}}}$ $=\pm$o,36 $=\pm$6,4%

$\bar{\Delta}_{6_i}$ = Mittelwert der Aktivitätsbestimmungen mit der Δ_6-Merckotestmethode für das i-te Serum

$S_{\Delta_{6_i}}$ = mittlerer quadratischer Fehler der Aktivitätsbestimmungen für das i-te Serum

Aus den Messungen folgt:

Größter mittlerer quadratischer Meßfehler:

$$S_{\Delta_{6max}} = \pm 0{,}5o \; [U/ml]$$

Größter prozentualer mittlerer quadr.Meßfehler:

$$S_{\Delta_{6max\%}} = \pm 1o\ \%$$

Mittlerer methodischer Meßfehler:

$$\bar{S}_{\Delta_6} = \pm o{,}34 \; [U/ml]$$

$$S_{\Delta_{6\%}} = \pm 6{,}7\ \%$$

7.) Δ_8-Merckotestmethode

$\bar{\Delta}_{8_1}$ =4,3	$\bar{\Delta}_{8_2}$ =7,5	$\bar{\Delta}_{8_3}$ =6,5	$\bar{\Delta}_{8_4}$ =6,7	$\bar{\Delta}_{8_5}$ =6,0
$S_{\Delta_{8_1}} = \pm 0,36$	$S_{\Delta_{8_2}} = \pm 0,50$	$S_{\Delta_{8_3}} = \pm 0,50$	$S_{\Delta_{8_4}} = \pm 0,58$	$S_{\Delta_{8_5}} = \pm 0,0$
$= \pm 8,4\%$	$= \pm 6,7\%$	$= \pm 7,7\%$	$= \pm 8,65\%$	$= \pm 0\ \%$

$\bar{\Delta}_{8_6}$ =7,13	$\bar{\Delta}_{8_7}$ =5,83	$\bar{\Delta}_{8_8}$ =6,9	$\bar{\Delta}_{8_9}$ =5,9	$\bar{\Delta}8_{1_0}$ =7,1
$S_{\Delta_{8_6}} = \pm 0,43$	$S_{\Delta_{8_7}} = \pm 0,29$	$S_{\Delta_{8_8}} = \pm 0,36$	$S_{\Delta_{8_9}} = \pm 0,52$	$S_{\Delta_{8_{10}}} = \pm 0,36$
$= \pm 6,1\%$	$= \pm 5,0\%$	$= \pm 5,2\%$	$= \pm 8,8\%$	$= \pm 5,1\%$

$\bar{\Delta}_{8_i}$ = Mittelwert der Aktivitätsbestimmungen mit der Δ_8-Merckotestmethode für das i-te Serum

$S_{\Delta_{8_i}}$ = mittlerer quadratischer Fehler der Aktivitätsbestimmungen für das i-te Serum

Aus den Messungen folgt:

Größter mittlerer quadratischer Meßfehler:

$$S_{\Delta_{8max}} = \pm\ 0,58\ \left[\frac{U}{7}\right]$$

Größter prozentualer mittlerer quadr.Meßfehler:

$$S_{\Delta_{8max\%}} = \pm\ 8,8\ \%$$

Mittlerer methodischer Meßfehler:

$$\bar{S}_{\Delta_8} = \pm\ 0,39\ \left[\frac{U}{7}\right]$$

$$\bar{S}_{\Delta_{8\%}} = \pm\ 6,2\ \%$$

Die Meßfehlerbestimmungen der spektrophotometrischen Methode nach Kalow wurden von einer seit Jahren in dieser Methode eingearbeiteten MTA durchgeführt. Es wurde dabei ganz frisch hergestelltes Benzoylcholin benutzt. Das Substrat wurde genauestens mit einer 1,o ml-Pipette abgemessen. Unter Verwendung einer 5,o ml-Pipette für das Substrat ergibt sich bei der täglichen Routinebestimmung ein mittlerer quadratischer Meßfehler von ± 5 %.
Die Meßfehlerbestimmungen der Testpapiermethoden wurden stets nur von einem Untersucher durchgeführt. Der subjektive Meßfehler ist bei diesen Methoden relativ groß, und es empfiehlt sich, die Messungen stets von demselben Untersucher durchführen zu lassen.

Bei den Meßfehlerbestimmungen für die Merckotestmethoden wurden Serumtropfen von konstanter Größe (o,o25 ml) und stets dasselbe Farbband benutzt. Die Raumtemperatur betrug bei allen Messungen 2o - 22°C. Als Lichtquelle diente Tageslicht. Der Meßfehler, der durch Verwendung von Neonlicht entsteht (< 1 %), ist gering im Vergleich zum wesentlich größeren mittleren methodischen Meßfehler.

II. Spezielle Untersuchungen zum Merckotestverfahren:

a) Farbbänder:

Die gedruckten Farbbänder, die den Merckotestpackungen beiliegen, stimmen nicht alle in den Farbtönen und in der Eichung überein. Aus zwanzig Farbbändern wurden drei herausgesucht, die sich besonders auffallend unterschieden. Mit diesen wurden an zehn Seren Paralleluntersuchungen durchgeführt.
Für die Δ_6-Merckotestmethode ergab sich durch Benutzung der verschiedenen Farbbänder eine maximale prozentuale Meßdifferenz von 45 % (Abb.1) bzw. eine maximale einfache Meßdifferenz von 2,o $\left[\bar{U}/ml\right]$. Bei Vergleichsmessungen mit den Farbbändern 1 und 3 erhielt man für zehn Seren eine mittlere einfache Meßdifferenz von 1,8 $\left[\bar{U}/ml\right]$ und eine mittlere prozentuale Meßdifferenz von 36 %.

Für die Δ_8-Merckotestmethode betrug die maximale Meßdifferenz 2,8 $\left[\bar{U}^{\times}\right]$ (Abb.2) und die maximale prozentuale Meßdifferenz 41 % (Abb.1). Bei Vergleichsmessungen mit den Farbbändern 1 und 3 ergab sich eine mittlere Meßdifferenz von 1,9 $\left[\bar{U}^{\times}\right]$ und eine mittlere prozentuale Meßdifferenz von 3o %.

b) Tropfengröße:

Von der Herstellerfirma wird allgemein nur angegeben, daß zur Durchführung der Messungen jeweils ein Tropfen Serum oder Plasma in die Vertiefung der Testplatte gegeben werden soll. Über die Größe des Tropfens wird nichts ausgesagt.

An acht verschiedenen Seren wurden Parallelbestimmungen mit Tropfengrößen von o,o1o ml bis o,1oo ml Serum durchgeführt. Dabei ergab sich, daß die Meßwerte von der Tropfengröße abhängig sind. Bei Tropfengrößen über o,o35 ml wird die Indikatorfarbe so verdünnt, daß die Grundfarbe des Testpapiers und die hellgelbe Eigenfarbe der Seren zur Geltung kommen und die Messungen beeinflussen, derart, daß mit dem Farbband höhere Aktivitätswerte abgelesen werden.

Bei einer Tropfengröße von o,o25 ml ist der Testpapierstreifen gerade mit Serum gesättigt. Berücksichtigt man nur Tropfengrößen von o,o25 ml bis o,1oo ml, so folgt aus den Parallelbestimmungen für die Δ_6-Merckotestmethode eine maximale Meßdifferenz von 1,5 [U/ml] (Abb.3, Serum 2) und eine maximale prozentuale Meßdifferenz von 3o % (Abb.3, Serum 2). Die mittlere einfache Meßdifferenz berechnet sich zu o,9 [U/ml], die mittlere prozentuale Meßdifferenz zu 19 %.

Bei der Δ_8-Merckotestmethode betrug die maximale Meßdifferenz 2,o [U*] (Abb. 4, Serum 6) und die maximale prozentuale Meßdifferenz 31 % (Abb. 4, Serum 5). Die mittlere Meßdifferenz war 1,2 [U*], die mittlere prozentuale Meßdifferenz 18 %.

c) Raumtemperatur:

Es wurden mit fünf verschiedenen Seren Parallelmessungen bei Temperaturen von 2o°C und 3o°C durchgeführt. Die Serumcholinesterase-Aktivität nahm dabei mit steigender Temperatur zu. Durch die Temperaturunterschiede bei den Messungen ergab sich für die Δ_6-Merckotestmethode :

eine maximale einfache Meßdifferenz von 2,o [U/ml], (Abb. 5)
eine maximale prozentuale Meßdifferenz von 42,5 %,
eine mittlere Meßdifferenz von 1,4 [U/ml]
eine mittlere prozentuale Meßdifferenz von 26,5 %.

Entsprechend erhielt man für die Δ_8-Merckotestmethode durch die Temperaturunterschiede bei den Messungen:

eine maximale einfache Meßdifferenz von 2,5 $\bar{U}$, (Abb. 5)
eine maximale prozentuale Meßdifferenz von 4o %,
eine mittlere einfache Meßdifferenz von 1,7 $\bar{U}$,
eine mittlere prozentuale Meßdifferenz von 26 %.

d) Testplatten:

Von der Herstellerfirma sind zwei verschiedene Sorten von Testplatten entwickelt worden, von denen die eine einen grauweißen und die andere einen elfenbeinfarbenen Farbton hat. Außerdem unterscheiden sie sich in der Größe ihrer Auflageflächen. Mit beiden Testplattensorten wurden an vier Seren Fünffachbestimmungen durchgeführt und anschließend für jedes Serum die mittlere SChE-Aktivität und der mittlere quadratische Meßfehler bestimmt. Beide Testplattensorten lieferten dabei im Rahmen des methodischen Meßfehlers dieselben Ergebnisse.

III. Statistische Untersuchungen mit Normalseren:

a) Untersuchungsgut und Untersuchungsgang:

Von 551 Humanseren wurde die SChE-Aktivität mit der spektrophotometrischen Methode nach Kalow und den Papierstreifentests "Acholest, Δ_6-Merckotest und Δ_8-Merckotest" bestimmt. Die Dibucainnumber (DN) wurde von allen Seren nach dem von Kalow angegebenen Hemmtest ermittelt. Außerdem wurden Vergleichsmessungen mit dem Suchtest für atypische SChE-Varianten nach Swift und La Du durchgeführt.
531 der getesteten Seren waren Blutspenderseren, 2o waren Klinikseren mit normaler SChE-Aktivität.

Die Plutproben wurden stets zwei bis vier Stunden nach der Blutentnahme zentrifugiert. Die Seren wurden dann abgegossen und luftdicht verschlossen bei 4°C im Kühlschrank aufbewahrt. Die SChE-Aktivitätsbestimmungen wurden 14 - 24 Stunden nach der Blutentnahme vorgenommen.

Durch Vergleichsbestimmungen an 2o Seren, deren SChE-Aktivität jeweils 6 Stunden, 23 Stunden und 3o Stunden nach der Blutentnahme ermittelt wurde, konnte gezeigt werden, daß sich die SChE-Aktivität in diesem Zeitraum bei oben angegebener Aufbewahrung der Seren nicht ändert.

b) Physiologische Schwankungsbreite der SChE-Aktivität:

1.) Spektrophotometrische Methode nach Kalow:

Für die 551 getesteten Normalseren ergab sich mit der spektrophotometrischen Methode nach Kalow

eine mittlere SChE-Aktivität von

$$\bar{k} = 99{,}6o \ \bar{\Delta}\text{Ex1ooo/3 min bei } 26^{\circ}\text{C}$$

eine Standardabweichung von

$$s_k = \pm\ 19{,}79 \ \bar{\Delta}\text{Ex1ooo/3 min bei } 26^{\circ}\text{C}$$

ein 95 % Vertrauensbereich für den Mittelwert $\bar{K}$ von

$$\text{Konf}_{o,95}\left\{97{,}94 \leq \bar{K} \leq 1o1{,}26\right\},$$

ein 95 % Vertrauensbereich für die Varianz S_k^2 von

$$\text{Konf}_{o,95}\left\{349{,}63 \leq S_k^2 \leq 443{,}o2\right\}.$$

Die relative Häufigkeitsverteilung der 551 mit der Kalow-Methode gefundenen Meßwerte zeigt Abb. 6. Die Meßwerte wurden dabei in elf Klassen unterteilt; die Klassenintervalle wurden gleich lang gewählt und zwar jeweils 1o $\bar{\Delta}$Ex1ooo/3 min bei 26°C.

Aus der Häufigkeitsverteilung ist zu erkennen, daß die Meßwerte nicht genau symmetrisch um den Mittelwert $\bar{k}$ verteilt liegen. Ausserhalb der 2 s_k-Grenzen findet man mehr Meßwerte hoher SChE-Aktivität als niedriger SChE-Aktivität. Der dichteste Wert liegt bei

$$k_D = 96{,}4 \ \bar{\Delta}\text{Ex1ooo/3 min bei } 26^{\circ}\text{C}.$$

In Abb. 7 sind die zugehörigen Verteilungsfunktionen $\bar{F}(k)$ und $F(k)$ dargestellt.

Die physiologische Schwankungsbreite der SChE-Aktivität ist beträchtlich. Unter den 551 getesteten Normalseren wurde eine größte SChE-Aktivität von 16o /Δ Ex1ooo/3 min bei 26°C/ und eine kleinste SChE-Aktivität von 57 /ΔEx1ooo/ 3 min bei 26°C/ gefunden.

Da die Meßwerte bei allen getesteten Methoden nicht streng normalverteilt sind (s.u.), wird ein 98 %-Intervall als Normalbereich angegeben. Als Übergangsbereich für pathologisch erniedrigte und normale SChE-Aktivität wird stets das Intervall von der unteren Schranke x_u des Normalbereiches bis zur Schranke x_{2o} angegeben. Bei x_{2o} liegt der Schnittpunkt der Verteilungskurve F(x) mit der 2o %-Linie (s.Abb.7).

Nach Elimination des methodischen Meßfehlers folgt für die spektrophotometrische Methode nach Kalow:

Normalbereich:

61 /Δ Ex1ooo/3 min/ ≤ k ≤ 15o /Δ Ex1ooo/3 min bei 26°C/

Bereich pathologisch erhöhter SChE-Aktivität:

k > 15o /Δ Ex1ooo/3 min bei 26°C/

Bereich pathologisch erniedrigter SChE-Aktivität:

k < 61 /Δ Ex1ooo/3 min bei 26°C/

Übergangsbereich für normale und pathologisch erniedrigte SChE-Aktivität:

61 /Δ Ex1ooo/3 min/ ≤ k ≤ 77 /Δ Ex1ooo/3 min bei 26°C/

($2s_k$-Bereich:

6o /Δ Ex1ooo/3 min/ ≤ k ≤ 139 /ΔEx1ooo/3 min bei 26°C/)

2.) Testpapiermethode Acholest:

Aus den 551 Messungen mit der Testpapiermethode Acholest folgt:

mittlere SChE-Aktivität:

$$\bar{a} = 12{,}37 \; [\text{min}^{-}]$$

Standardabweichung:

$$s_a = \pm 3{,}18 \; [\text{min}^{-}]$$

95 % Vertrauensbereich für den Mittelwert $\bar{A}$:

$$\text{Konf}_{0,95} \{12{,}10 \leq \bar{A} \leq 12{,}64\}$$

95 % Vertrauensbereich für die Varianz S_a^2

$$\text{Konf}_{0,95} \{9{,}01 \leq S_a^2 \leq 11{,}42\}$$

Die relative Häufigkeitsverteilung der 551 mit der Acholest-Methode bestimmten SChE-Aktivitäten ist in Abb. 8 dargestellt. Die Meßwerte wurden dabei in 21 Klassen unterteilt. Die Klassenintervalle wurden wieder gleich lang (1 min) gewählt. Die Abszisse weist in Richtung steigender SChE-Aktivitäten.

Abb. 8 zeigt, daß die Meßwerte bei der Acholest-Methode sehr unsymmetrisch verteilt sind. Während der Mittelwert bei $\bar{a} = 12{,}37 \; [\text{min}^{-}]$ liegt, findet man den dichtesten Wert bei

$$a_D = 11{,}04 \; [\text{min}^{-}].$$

Ausserhalb der 2_{Sa}-Grenzen liegen bei der Acholest-Methode im Gegensatz zur Kalow-Methode mehr Meßwerte niedriger SChE-Aktivität als Meßwerte hoher SChE-Aktivität.

Die Verteilungsfunktionen $\bar{F}$ (a) und F (a) sind in Abb. 9 dargestellt.

Nach Elimination des methodischen Meßfehlers erhält man für die Testpapiermethode Acholest:

Normalbereich:

$$6{,}5 \; [\text{min}^{-}] \leq a \leq 21{,}0 \; [\text{min}^{-}]$$

Bereich pathologisch erhöhter SChE-Aktivität:

$$a < 6{,}5 \; [\text{min}]$$

Bereich pathologisch erniedrigter SChE-Aktivität:

$$a > 21{,}0 \; [\text{min}]$$

Übergangsbereich für normale und pathologisch erniedrigte SChE-Aktivität (Abb. 9) :

$$15{,}0 \; [\text{min}] \leq a \leq 21{,}0 \; [\text{min}]$$

($2s_a$-Bereich: $6{,}01 \; [\text{min}] \leq a \leq 18{,}73 \; [\text{min}]$)

3.) Testpapiermethode Merckotest:

α) Δ_6-Merckotestmethode:

Aus den 551 SChE-Aktivitätsbestimmungen mit der Δ_6-Merckotestmethode folgt:

mittlere SChE-Aktivität:

$$\bar{\Delta}_6 = 5{,}25 \; [\text{U/ml}]$$

Standardabweichung:

$$s_{\Delta_6} = \pm 1{,}02 \; [\text{U/ml}]$$

95 % Vertrauensbereich für den Mittelwert $\bar{D}_6$:

$$\text{Konf}_{0{,}95} \{ 5{,}16 \leq \bar{D}_6 \leq 5{,}34 \; [\text{U/ml}] \}$$

95 % Vertrauensbereich für die Varianz $S_{\Delta_6}{}^2$:

$$\text{Konf}_{0{,}95} \{ 0{,}919 \leq S^2_{\Delta_6} \leq 1{,}165 \}$$

Die relative Häufigkeitsverteilung der 551 Meßwerte zeigt Abb. 10. Die beobachteten Aktivitätswerte wurden dabei in 13 Klassen mit einer Intervallänge von jeweils 0,5 [U/ml] eingeteilt. Den dichtesten Wert findet man bei

$$\Delta_{6_D} = 5{,}55 \; [\text{U/ml}].$$

Ausserhalb der $2s_{\Delta_6}$-Grenzen liegen wie bei der Kalow-Methode

mehr Meßwerte hoher SChE-Aktivität als Meßwerte niedriger SChE-Aktivität. Die Verteilungsfunktionen $\bar{F}(\Delta_6)$ und $F(\Delta_6)$ sind in Abb. 11 dargestellt.

Für die Δ_6-Merckotestmethode gilt:

Normalbereich:

$$3{,}0 \; [\text{U/ml}] \leq \Delta_6 \leq 7{,}5 \; [\text{U/ml}]$$

Bereich pathologisch erhöhter SChE-Aktivität:

$$\Delta_6 > 7{,}5 \; [\text{U/ml}]$$

Bereich pathologisch erniedrigter SChE-Aktivität:

$$\Delta_6 < 3{,}0 \; [\text{U/ml}]$$

Übergangsbereich für normale und pathologisch erniedrigte SChE-Aktivität (s. Abb. 11):

$$3{,}0 \leq \Delta_6 \leq 4{,}0 \; [\text{U/ml}]$$

($2s_{\Delta_6}$-Bereich: $3{,}2 \; [\text{U/ml}] \leq \Delta_6 \leq 7{,}3 \; [\text{U/ml}]$)

β) Δ_8-Merckotestmethode:

Mit der Δ_8-Merckotestmethode ergibt sich aus den 551 Messungen:

mittlere SChE-Aktivität:

$$\bar{\Delta}_8 = 6{,}70 \; [\text{U}^*]$$

Standardabweichung:

$$s_{\Delta_8} = 1{,}28 \; [\text{U}^*]$$

95 % Vertrauensbereich für den wahren Mittelwert $\bar{D}_8$:

$$\text{Konf} \left\{ 6{,}59 \; [\text{U}^*] \leq \bar{D}_8 \leq 6{,}81 \; [\text{U}^*] \right\}$$

95 % Vertrauensbereich für die Varianz S_{Δ_8}:

$$\text{Konf}_{0{,}95} \left\{ 1{,}462 \leq S_{\Delta_8} \leq 1{,}852 \right\}$$

Die relative Häufigkeitsverteilung der 551 Δ_8-Meßwerte zeigt Abb. 12. Die SChE-Aktivitätswerte wurden dabei in 18 Klassen mit einer Intervallänge von jeweils o,5 $\angle$ U $\rangle$ eingeteilt. Den dichtesten Wert findet man bei

$$\Delta_{8_D} = 6{,}22 \angle \text{U} \rangle .$$

Außerhalb der $2s_{\Delta_8}$-Grenzen liegen wie bei der Δ_6-Merckotest- und Kalowmethode mehr Meßwerte hoher SChE-Aktivität als Meßwerte niedriger SChE-Aktivität. In Abb. 13 sind die Verteilungsfunktionen $\bar{F}(\Delta_8)$ und $F(\Delta_8)$ wiedergegeben.

Für die Δ_8-Merckotestmethode folgt aus den Untersuchungen:

Normalbereich:

$$4{,}0 \angle \text{U} \rangle \leq \Delta_8 \leq 10{,}0 \angle \text{U} \rangle$$

Bereich pathologisch erhöhter SChE-Aktivität:

$$\Delta_8 > 10{,}0 \angle \text{U} \rangle$$

Bereich pathologisch erniedrigter SChE-Aktivität:

$$\Delta_8 < 4{,}0 \angle \text{U} \rangle$$

Übergangsbereich für normale und pathologisch erniedrigte SChE-Aktivität:

$$4{,}0 \angle \text{U} \rangle \leq \Delta_8 \leq 5{,}5 \angle \text{U} \rangle$$

($2s_{\Delta_8}$-Bereich: $4{,}14 \angle \text{U} \rangle \leq \Delta_8 \leq 9{,}26 \angle \text{U} \rangle$)

c) <u>Prüfung der gefundenen Meßwerte auf Normalverteilung:</u>

Bei Signifikanzberechnungen und bei der Angabe von Vertrauensbereichen für den Korrelationskoeffizienten ist es notwendig, den Verteilungstyp der vorliegenden Stichprobe genauer zu kennen. Mit dem Chi-Quadrattest von K. Pearson (25) wird die Hypothese geprüft, daß die mit der Kalow-, Acholest- oder Merckotestmethode gefundenen Meßwerte jeweils normalverteilt sind.

1.) Kalowmethode:

Tabelle 1:

k	$\frac{k-99,60}{19,78}$	$\Phi\ \frac{k-99,60}{19,78}$	p_i	$n \cdot p_i = e_i$	z_i	$X_i = \frac{(z_i - e_i)^2}{e_i}$
$-\infty$ - 62,5	$-\infty$ /-1,88	o,oooo/o,o3o1	o,o3o1	16,59	12	1,27o
62,5 - 72,5	-1,88/-1,37	o,o3o1/o,o853	o,o552	3o,42	34	o,421
72,5 - 82,5	-1,37/-o,86	o,o853/o,1949	o,1o96	6o,39	71	1,864
82,5 - 92,5	-o,86/-o,36	o,1949/o,3594	o,1645	9o,64	94	o,125
92,5 - 1o2,5	-o,36/+o,15	o,3594/o,5596	o,2oo2	11o,31	115	o,199
1o2,5 - 112,5	+o,15/+o,65	o,5596/o,7422	o,1826	1oo,61	82	3,442
112,5 - 122,5	+o,65/+1,16	o,7422/o,877o	o,1348	74,27	67	o,712
122,5 - 132,5	+1,16/+1,66	o,877o/o,9515	o,o745	41,o5	44	o,212
132,5 - 142,5	+1,66/+2,17	o,9515/o,985o	o,o335	18,46	17	o,115
142,5 - ∞	+2,17/+ ∞	o,985o/1,oooo	o,o15o	8,27	15	5,477

$$\chi_e^2 = \sum X_i = 13,837$$

Bei Einteilung der 551 Kalow-Meßwerte in obige zehn Klassen und Abschätzung des wahren Mittelwerts $\bar{K}$ und der wahren Standardabweichung S_k nach der Maximum-Likelihood-Methode, erhält man für $\chi_e^2 = 13,84$ (s.Tab.1). Die 5- und 1%-Schranken für die χ^2-Verteilung mit 7 Freiheitsgraden sind:

$$c_{5\%} = 14,07 \qquad c_{1\%} = 18,48$$

Damit ist $\chi_e^2 < c_{5\%} < c_{1\%}$.

2.) Acholestmethode (a-Werte):

Pei Einteilung der a-Werte in die 14 Klassen $\lfloor -\infty - 7,25 \rfloor$, $\lfloor 7,25 - 8,25 \rfloor$, ... , $\lfloor 19,25 - \infty \rfloor$ wird $\chi_e^2 = 39,12$. Die 5- und 1 %-Schranken für die Chi-Quadrat-Verteilung mit 11 Freiheitsgraden sind

$$c_{5\%} = 19,68 \qquad c_{1\%} = 24,73$$

Somit gilt: $\chi_e^2 > c_{1\%} > c_{5\%}$.

3.) Acholestmethode ($\frac{100}{a}$ - Werte):

Einteilung der $\frac{100}{a}$ - Werte in die 10 Klassen $]-\infty - 4{,}75]$, $]4{,}75 - 5{,}75]$, ... , $]12{,}75 - \infty]$. Es folgt: $\chi_o^2 = 41{,}32$, $c_{5\%} = 14{,}07$, $c_{1\%} = 18{,}48$ und somit $\chi_o^2 > c_{1\%} > c_{5\%}$

4.) Δ_6-Merckotestmethode:

Einteilung der Δ_6-Meßwerte in die 10 Klassen $]-\infty - 3{,}25]$, $]3{,}25 - 3{,}75]$, ... , $]7{,}25 - \infty]$. Es folgt: $\chi_o^2 = 13{,}43$, $c_{5\%} = 14{,}07$, $c_{1\%} = 18{,}48$. Damit gilt: $\chi_o^2 < c_{5\%} < c_{1\%}$.

5.) Δ_8-Merckotestmethode:

Einteilung der Δ_8-Meßwerte in die 13 Klassen $]-\infty - 4{,}25]$, $]4{,}25 - 4{,}75]$, ... , $]9{,}75 - \infty]$. Es folgt: $\chi_o^2 = 22{,}49$, Für 10 Freiheitsgrade ist: $c_{5\%} = 18{,}31$, $c_{1\%} = 23{,}21$. Also gilt: $c_{5\%} < \chi_o^2 < c_{1\%}$.

Aus den Untersuchungen ergibt sich:

α) Die Acholestwerte (a-Werte und $\frac{100}{a}$ -Werte) sind sicher nicht normalverteilt.

β) Die Δ_8-Meßwerte sind mit Einschränkung als normalverteilt anzusehen.

γ) Für die Meßwerte der Kalow- und Δ_6-Merckotestmethode kann man annehmen, daß sie einer normalverteilten Grundgesamtheit entstammen.

Die Verteilungsfunktionen F(k) und $F(\Delta_6)$ werden angenähert dargestellt durch:

$$F(k) = \frac{1}{19{,}8\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{K} e^{-1/2\,(\frac{v-99{,}6}{19{,}8})^2}\,dv,$$

$$F(\Delta_6) = \frac{1}{1{,}02\sqrt{2\pi}} \int_{-\infty}^{\Delta_6} e^{-1/2\,(\frac{v-5{,}25}{1{,}02})^2}\,dv.$$

d) Korrelation der einzelnen Bestimmungsmethoden:

Um die gegenseitige Abhängigkeit der getesteten Meßverfahren für die SChE-Aktivität zu prüfen, wurde an Hand des Korrelationskoeffizienten die Korrelation der einzelnen Methoden untereinander bestimmt.

Der Korrelationskoeffizient

$$r_{x,y} = \frac{\sum_{\nu=1}^{n} (x_\nu - \bar{x}) \cdot (y_\nu - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{\nu=1}^{n} (x_\nu - \bar{x})^2 \cdot \sum_{\nu=1}^{n} (y_\nu - \bar{y})^2}} \qquad (25, 39, 4o)$$

$$= \frac{\sum_{\nu=1}^{n} x_\nu \; - \; 1/n \sum_{\nu=1}^{n} x_\nu \cdot \sum_{\nu=1}^{n} y_\nu}{\sqrt{\left[\sum_{\nu=1}^{n} x_\nu^2 - 1/n\left(\sum_{\nu=1}^{n} x_\nu\right)^2\right] \cdot \left[\sum_{\nu=1}^{n} y_\nu^2 - 1/n\left(\sum_{\nu=1}^{n} y_\nu\right)^2\right]}}$$

ist ein Maß für den Grad der linearen Abhängigkeit zwischen x und y. Nimmt er den Wert +1 oder -1 an, so liegen die Stichprobenwerte (x_1, y_1), ...y (x_n, y_n) genau auf einer Geraden.

Als Grundlage für die Berechnung der Korrelationskoeffizienten dienten die mit den verschiedenen Methoden erhaltenen SChE-Aktivitätswerte von 551 Normalseren (n = 551).

In Tabelle 2 sind die ermittelten empirischen Korrelationskoeffizienten $r_{x,y}$ und 95 % Vertrauensbereiche für die wahren Korrelationskoeffizienten $R_{x,y}$ angegeben.
Neben den Korrelationskoeffizienten $r_{a,y}$ wurden auch die Korrelationskoeffizienten $r_{\frac{1oo}{a},\, y}$ berechnet. Im Gegensatz zu den anderen getesteten Methoden wird bei der Acholestmethode die SChE-Aktivität mit zunehmenden Meßwerten a kleiner. Gibt man aber die $\frac{1oo}{a}$ - Werte als Maß für die SChE-Aktivität an, so verhalten sich die Meßwerte der Acholestmethode gleichsinnig mit den Meßwerten der anderen Verfahren.
Bei der Bestimmung der Vertrauensbereiche für $R_{x,y}$ muß vorausgesetzt werden, daß die Stichprobenwerte (x_1, y_1), ... , (x_n, y_n) einer zweidimensionalen Normalverteilung entstammen. Da bei der Acholestmethode die a- und $\frac{1oo}{a}$- Werte sicher nicht normalverteilt sind (s.o.), wird auf die Angabe von Vertrauensbereichen für $R_{a,y}$ und $R_{\frac{1oo}{a},\, y}$ verzichtet.

Tabelle 2:

Vergleichsmethoden	empirische Korrelations-koeffizienten	95 % Vertrauensbereiche für die wahren Korre-lationskoeffizienten
Kalow/Acholest (a-Werte)	$r_{a,k} = o,8o5$	
Kalow/Acholest ($\frac{1oo}{a}$Werte)	$r_{\frac{1oo}{a},k} = o,8oo$	
Kalow/Δ_6-Merckotest	$r_{\Delta_6,k} = o,771$	$o,737 < R_{\Delta_6,k} < o,8o5$
Kalow/Δ_8-Merckotest	$r_{\Delta_8,k} = o,815$	$o,787 < R_{\Delta_8;k} < o,843$
Δ_6-Merckotest/Acholest (a-Werte)	$r_{\Delta_6,a} = o,648$	
Δ_6-Merckotest/Acholest($\frac{1oo}{a}$Werte)	$r_{\Delta_6,\frac{1oo}{a}} = o,649$	
Δ_8-Merckotest/Acholest($\frac{1oo}{a}$W.)	$r_{\Delta_8,\frac{1oo}{a}} = o,71o$	
Δ_8-Merckotest/Δ_6-Merckotest	$r_{\Delta_8,\Delta_6} = o,946$	$o,937 < R_{\Delta_8,\Delta_6} < o,955$

Die Konfidenzintervalle für $R_{\Delta_6,k}$ und $R_{\Delta_8,k}$ überlappen sich. $r_{\Delta_6,k}$ und $r_{\Delta_8,k}$ können also zum gleichen R gehören. Prüft man mit der von R.A.Fisher (39) angegebenen Transformation $z = 1/2 \ln \frac{1+r}{1-r}$, ob sich die Korrelationskoeffizienten $r_{\Delta_6,k}$ und $r_{\Delta_8,k}$ signifikant unterscheiden, so erhält man:

$$t_o = \frac{z_{\Delta_8,k} - z_{\Delta_6,k}}{S_D} = 1,41.$$

Wegen $c_{o,9o} = 1,28$, $c_{o,95} = 1,65$, $c_{o,975} = 1,96$ folgt:

$$c_{o,9o} < t_o < c_{o,95} < c_{o,975}.$$

Bei Wahl der Konfidenzzahl o,95 ist der Unterschied zwischen den Korrelationskoeffizienten also nicht signifikant, bei $\alpha = o,9$ ist er signifikant. Hervorzuheben ist die gute Korrelation der Δ_6-Merckotestmethode zur Δ_8-Merckotestmethode ($r_{\Delta_8,\Delta_6} = o,946$) und die relativ schlechte Korrelation der Δ_6-Merckotestmethode zur Acholestmethode ($r_{\Delta_6,a} = o,648$).

e) Regressionsberechnungen:

1.) Empirische Regressionsgeraden:

Wegen der guten Korrelation der einzelnen Bestimmungsmethoden untereinander wurde jeweils lineare Regression angenommen und für die Meßpunkte (x_1, y_1), ... (x_n, y_n) die Regressionsgerade $y - \bar{y} = b_{y,x}\ (x-\bar{x})$ berechnet. Die Regressionsgerade hat als Steigungsmaß den Regressionskoeffizienten:

$$b_{y,x} = \frac{\sum_{\nu=1}^{n}(x_\nu-\bar{x})(y_\nu-\bar{y})}{\sum_{\nu=1}^{n}(x_\nu-\bar{x})^2} \qquad (25, 39, 4o)$$

$$= \frac{\sum_{\nu=1}^{n} x_\nu^2 - 1/n\left(\sum_{\nu=1}^{n} x_\nu\right)^2}{\sum_{\nu=1}^{n} x_\nu y_\nu - 1/n \cdot \sum_{\nu=1}^{n} x_\nu \cdot \sum_{\nu=1}^{n} y_\nu}$$

Tabelle 3:

Bestimmungsmethoden	empirische Regressions-koeffizienten	empirische Regressionsgeraden
Kalow/Acholest(a-Werte)	$b_{k,a}$=-5,o2o	$y_{k(a)}$=-5,o2·a + 161,7
Kalow/Acholest($\frac{1oo}{a}$-Werte)	$b_{k,\frac{1oo}{a}}$= 7,267	$y_{k(\frac{1oo}{a})}$= 7,267·$\frac{1oo}{a}$ + 37,o3
Kalow/Δ_6-Merckotest	b_{k,Δ_6} =15,o36	$y_{k(\Delta_6)}$=15,o36·Δ_6+2o,66
Kalow/Δ_8-Merckotest	b_{k,Δ_8} =12,616	$y_{k(\Delta_8)}$=12,616·Δ_8 + 15,o7
Acholest(a-Werte)/Kalow	$b_{a,k}$ =-o,1294	$y_{a(k)}$ =-o,1294 k + 25,26
Acholest(a-Werte)/Δ_6-Merck.	b_{a,Δ_6} =-2,o31	$y_{a(\Delta_6)}$=-2,o31·Δ_6 + 23,o3
Acholest(a-Werte)/Δ_8-Merck.	$b_{\frac{1oo}{a},8}$ = 1,2o9	$y_{\frac{1oo}{a}(\Delta_8)}$=1,2o9$\Delta_8$ + o,51
Acholest($\frac{1oo}{a}$-W.)/Δ_6-Merck.	$b_{\frac{1oo}{a},\Delta_6}$ =1,39	$y_{\frac{1oo}{a}(\Delta_6)}$ =1,39 Δ_6 + 1,31
Acholest($\frac{1oo}{a}$-W.)/Kalow	$b_{\frac{1oo}{a},k}$ =o,o88	$y_{\frac{1oo}{a}(k)}$ =o,o88 k - o,165

Bestimmungsmethoden	empirische Regressions-koeffizienten	empirische Regressionsgeraden
Δ_6-Merckotest/Kalow	$b_{\Delta_6,k} = 0{,}0395$	$y_{\Delta_6(k)} = 0{,}0395\ k + 1{,}32$
Δ_6-Merckotest/Acholest(a-W)	$b_{\Delta_6,a} = -0{,}207$	$y_{\Delta_6(a)} = -0{,}207\ a + 7{,}81$
Δ_6-Merckotest/Ach.$(\frac{100}{a}-W.)$	$b_{\Delta_6,\frac{100}{a}} = 0{,}302$	$y_{\Delta_6(\frac{100}{a})} = 0{,}302\ \frac{100}{a} + 2{,}65$
Δ_6-Merckotest/Δ_8-Merck.	$b_{\Delta_6,\Delta_8} = 0{,}750$	$y_{\Delta_6(\Delta_8)} = 0{,}75\,\Delta_8 + 0{,}225$
Δ_8-Merckotest/Kalow	$b_{\Delta_8,k} = 0{,}0527$	$y_{\Delta_8(k)} = 0{,}0527\ k + 1{,}45$
Δ_8-Merckotest/Achol.$(\frac{100}{a}W)$	$b_{\Delta_8,\frac{100}{a}} = 0{,}417$	$y_{\Delta_8(\frac{100}{a})} = 0{,}417\ \frac{100}{a} + 3{,}11$
Δ_8-Merckotest/Δ_6-Merck.	$b_{\Delta_8,\Delta_6} = 1{,}193$	$y_{\Delta_8(\Delta_6)} = 1{,}193\,\Delta_6 + 0{,}44$

In Tabelle 5 sind die gefundenen empirischen Regressionskoeffizienten und die zugehörigen empirischen Regressionsgeraden aufgeführt. Als Grundlage für die Berechnungen dienten die jeweils mit den verschiedenen Testverfahren bestimmten SChE-Aktivitäten von 551 Normalseren.

2.) Beziehung der Meßwerte der Testpapiermethoden zu den Meßwerten der Kalowmethode:

Von allen getesteten Meßverfahren ist die spektrophotometrische Methode nach Kalow die genaueste Bestimmungsmethode der SChE-Aktivität. Mit Hilfe der Regressionsgraden $y_{k(x)} - \bar{k} = b_{k,x}(x-\bar{x})$ kann man von einem mit der Vergleichsmethode X gefundenen x-Wert auf den entsprechenden Kalowwert $y_{k(x)}$ schließen. Die Genauigkeit dieser Schätzung wird durch den Standardfehler $s_{k(x)}$ der Schätzung von k durch x angegeben.
Es ist:

$$s_{k(x)} = \sqrt{\frac{1}{n-2} \sum_{\nu=1}^{n} (y_{k(x_\nu)} - k_\nu)^2}$$

k_ν = mit der spektrophotometrischen Methode nach Kalow gemessene SChE-Aktivität des ν-ten Serums. Einheit: $\bar{\Delta}E \times 1000/3$ min bei 26°C

x_ν = mit der Vergleichsmethode X gemessene SChE-Aktivität des ν-ten Serums. Einheit: $\bar{\Delta}E_x$

$y_{k(x_\nu)}$ = der zu x_ν gehörende Wert der Regressionsgeraden $y_{k(x_\nu)} - \bar{k} = b_{k,x}(x_\nu - \bar{x})$. Einheit: $\bar{\Delta}$ Ex1000/3 min

Der Standardfehler der Schätzung von k durch x hängt mit dem Korrelationskoeffizienten $r_{k,x}$ durch folgende Beziehung zusammen:

$$r_{k,x} = \sqrt{1 - \frac{\sum_{\nu=1}^{n}(y_{k(x_\nu)} - k_\nu)^2}{\sum_{\nu=1}^{n}(k_\nu - \bar{k})^2}}$$

$$= \sqrt{1 - \frac{(n-2)\, s_{k(x)}}{(n-1)\, s_k^2}} \qquad (s_k^2 = \text{Varianz der k-Werte})$$

Vergleicht man die mit den verschiedenen Testpapiermethoden X_i gefundenen $s_{k(x_i)}$ und r_{k,x_i}, so gilt wegen der Konstanz der Varianz s_k^2: $r_{k,x_i} \longrightarrow \pm 1$ bzw. $s_{k(x_i)} \longrightarrow 0$, je besser die mit der Testpapiermethode X_i gemessenen SChE-Aktivitäten mit denjenigen der Kalowmethode übereinstimmen.

In Tabelle 4 sind die für die einzelnen Testpapiermethoden X_i berechneten Standardfehler der Schätzung von k durch x_i und die entsprechenden Korrelationskoeffizienten r_{k,x_i} dargestellt.

Tabelle 4:

Vergleichsmethoden	Standardfehler der Schätzung von k durch x_i	Korrelationskoeffizienten r_{k,x_i}
Kalow/Acholest(a-Werte)	$s_{k(a)} = \pm 11{,}73\ \bar{\Delta}$Ex1000/3 min	$r_{k,a} = -0{,}805$
Kalow/Acholest($\frac{100}{a}$-W.)	$s_{k(\frac{100}{a})} = \pm 11{,}88\ \bar{\Delta}$Ex1000/3 min	$r_{k,\frac{100}{a}} = 0{,}800$
Kalow/Δ_6-Merckotest	$s_{k(\Delta_6)} = \pm 12{,}62\ \bar{\Delta}$Ex1000/3 min	$r_{k,\Delta_6} = 0{,}771$
Kalow/Δ_8-Merckotest	$s_{k(\Delta_8)} = \pm 11{,}46\ \bar{\Delta}$Ex1000/3 min	$r_{k,\Delta_8} = 0{,}815$

β) 95 % Vertrauensbereich für die Regressionsgerade:

$$\text{Konf}_{0,95}\left\{ y_{k(\Delta_8)} \pm 22{,}519\sqrt{0{,}00018 + \frac{(\Delta_8 - 6{,}7)^2}{900{,}9}} \right\}$$

γ) 95 % Vertrauensbereich für eine neue Beobachtung (Δ_{8_o}, k_o):

$$\text{Konf}_{0,95}\left\{ y_{k(\Delta_{8_o})} \pm 22{,}519\sqrt{1{,}00018 + \frac{(\Delta_{8_o} - 6{,}7)^2}{900{,}9}} \right\}$$

In Abb. 14, 15, 16, 17 sind die Regressionsgeraden $y_{k(a)}$, $y_{k(\frac{100}{a})}$, $y_{k(\Delta_6)}$ und $y_{k(\Delta_8)}$ mit den 95 % Vertrauensbereichen für eine neue Beobachtung dargestellt. Außerdem sind die jeweils zusammengehörenden Werte der 551 Aktivitätsbestimmungen mit der spektrophotometrischen Methode nach Kalow und mit der Vergleichsmethode X_i als Punkte in die x,y-Ebene eingetragen.

Mit Hilfe der Regressionsgeraden

α) $y_{k(a)} = -5{,}02\ a + 161{,}7$ (Abb.14)

β) $y_{k(\Delta_6)} = 15{,}036\Delta_6 + 20{,}66$ (Abb.16)

γ) $y_{k(\Delta_8)} = 12{,}616\Delta_8 + 15{,}07$ (Abb.17)

kann man im Normalbereich zu einem Meßwert der Testpapiermethoden den zugehörigen Meßwert der Kalowmethode in [ΔEx1000/3 min] abschätzen.

Entsprechend lassen sich im Normalbereich durch die Regressionsgeraden

α') $y_{\Delta_6(k)} = 0{,}0395\ k + 1{,}32$ (Abb.18)

β') $y_{\Delta_6(a)} = -0{,}207\ a + 7{,}81$

γ') $y_{\Delta_6(\Delta_8)} = 0{,}75\Delta_8 + 0{,}225$ (Abb.18)

für Meßwerte der Kalow-, Acholest- oder Δ_8-Merckotestmethode die entsprechenden Werte der Δ_6-Merckotestmethode in internationalen Enzymeinheiten [U/ml] abschätzen. Wegen der sehr guten Korrelation der Δ_8- und Δ_6-Merckotestmethoden gilt angenähert folgende Beziehung:

$$\Delta_8\ [U] = (0{,}75 \cdot \Delta_8 + 0{,}225)\ [U/ml].$$

IV.) Statistische Untersuchungen mit pathologischen Seren:

An 36 Seren, deren SChE-Aktivität im Bereich von 7 /Δ Ex1ooo/3 min/ bis 6o /Δ Ex1ooo/3 min/ lag (mittlere SChE-Aktivität: 41/Δ Ex1ooo/3 min/ wurden Vergleichsmessungen mit allen Testmethoden durchgeführt. Außerdem wurden 22 Hepatitisseren untersucht.
Die SChE-Aktivitätsbestimmungen mit der Acholestmethode wurden abgebrochen, wenn die Testzeit 3o min überschritt. Bei Meßzeiten über 3o min wird der methodische Meßfehler des Acholest-Verfahrens zunehmend größer und die Reagenzpapierstreifen trocknen z.T. aus. Für die Testpapiermethode Acholest werden deswegen im pathologisch erniedrigten SChE-Aktivitätsbereich keine Korrelationskoeffizienten und Regressionsgeraden berechnet.

In Tabelle 5 sind die ermittelten Korrelationskoeffizienten $r_{k,x}$ und die Standardfehler $s_{k(x)}$ der Schätzung von k für den pathologisch erniedrigten SChE-Aktivitätsbereich den entsprechenden Werten für den Normalbereich gegenübergestellt.

Tabelle 5

Vergleichsmethoden	Normalbereich	Pathologisch erniedrigter SChE-Aktivitätsbereich
Kalow/Δ_6-Merckotest	r_{k,Δ_6} = o,771	r_{k,Δ_6} = o,67o
	$s_{k(\Delta_6)}$ = ±12,62	$s_{k(\Delta_6)}$ = ± 1o,85/Δ Ex1ooo/ 3 min/
Kalow/Δ_8-Merckotest	r_{k,Δ_8} = o,815	$r_{k(\Delta_8)}$ = o,665
	$s_{k(\Delta_8)}$ = ± 11,46	$s_{k(\Delta_8)}$ = ± 1o,95/Δ Ex1ooo/ 3 min/

Aus der Gegenüberstellung der Korrelationskoeffizienten könnte man folgern, daß die Übereinstimmung der Meßwerte der Δ_6- und Δ_8-Merckotestmethode mit den Meßwerten der Kalow-Methode im pathologisch erniedrigten SChE-Aktivitätsbereich schlechter ist als im Normalbereich. Wegen der Verschiedenheit der Varianzen $s_{k_i}^2$ der Kalowwerte im Normalbereich ($s_{k_n}^2$ = 391,81) und im pathologisch erniedrigten SChE-Aktivitätsbereich ($s_{k_p}^2$ = 2o7,27) ist diese Folgerung

β) 95 % Vertrauensbereich für die Regressionsgerade:

$$\text{Konf}_{0,95}\left\{ y_{k(\Delta_8)} \pm 22{,}519\sqrt{0{,}0018 + \frac{(\Delta_8 - 6{,}7)^2}{900{,}9}} \right\}$$

γ) 95 % Vertrauensbereich für eine neue Beobachtung (Δ_{8_o}, k_o):

$$\text{Konf}_{0,95}\left\{ y_{k(\Delta_{8_o})} \pm 22{,}519\sqrt{1{,}0018 + \frac{(\Delta_{8_o} - 6{,}7)^2}{900{,}9}} \right\}$$

In Abb. 14, 15, 16, 17 sind die Regressionsgeraden $y_{k(a)}$, $y_{k(\frac{100}{a})}$, $y_{k(\Delta_6)}$ und $y_{k(\Delta_8)}$ mit den 95 % Vertrauensbereichen für eine neue Beobachtung dargestellt. Außerdem sind die jeweils zusammengehörenden Werte der 551 Aktivitätsbestimmungen mit der spektrophotometrischen Methode nach Kalow und mit der Vergleichsmethode X_i als Punkte in die x,y-Ebene eingetragen.

Mit Hilfe der Regressionsgeraden

α) $y_{k(a)} = -5{,}02\,a + 161{,}7$ (Abb.14)

β) $y_{k(\Delta_6)} = 15{,}036\,\Delta_6 + 20{,}66$ (Abb.16)

γ) $y_{k(\Delta_8)} = 12{,}616\,\Delta_8 + 15{,}07$ (Abb.17)

kann man im Normalbereich zu einem Meßwert der Testpapiermethoden den zugehörigen Meßwert der Kalowmethode in [Ex1000/3 min] abschätzen.

Entsprechend lassen sich im Normalbereich durch die Regressionsgeraden

α)' $y_{\Delta_6(k)} = 0{,}0395\,k + 1{,}32$ (Abb.18)

β)' $y_{\Delta_6(a)} = -0{,}207\,a + 7{,}81$

γ)' $y_{\Delta_6(\Delta_8)} = 0{,}75\Delta_8 + 0{,}225$ (Abb.18)

für Meßwerte der Kalow-, Acholest- oder Δ_8-Merckotestmethode die entsprechenden Werte der Δ_6-Merckotestmethode in internationalen Enzymeinheiten [U/ml] abschätzen. Wegen der sehr guten Korrelation der Δ_8- und Δ_6-Merckotestmethoden gilt angenähert folgende Beziehung:

$$\Delta_8\,[U^x] = (0{,}75 \cdot \Delta_8 + 0{,}225)\,[U/ml].$$

IV.) Statistische Untersuchungen mit pathologischen Seren:

An 36 Seren, deren SChE-Aktivität im Bereich von 7 /$\bar{\Delta}$Ex1ooo/3 min/ bis 6o /$\bar{\Delta}$Ex1ooo/3 min/ lag (mittlere SChE-Aktivität: 41/$\bar{\Delta}$Ex1ooo/3 min/ wurden Vergleichsmessungen mit allen Testmethoden durchgeführt. Außerdem wurden 22 Hepatitisseren untersucht.
Die SChE-Aktivitätsbestimmungen mit der Acholestmethode wurden abgebrochen, wenn die Testzeit 3o min überschritt. Bei Meßzeiten über 3o min wird der methodische Meßfehler des Acholest-Verfahrens zunehmend größer und die Reagenzpapierstreifen trocknen z.T. aus. Für die Testpapiermethode Acholest werden deswegen im pathologisch erniedrigten SChE-Aktivitätsbereich keine Korrelationskoeffizienten und Regressionsgeraden berechnet.

In Tabelle 5 sind die ermittelten Korrelationskoeffizienten $r_{k,x}$ und die Standardfehler $s_{k(x)}$ der Schätzung von k für den pathologisch erniedrigten SChE-Aktivitätsbereich den entsprechenden Werten für den Normalbereich gegenübergestellt.

Tabelle 5

Vergleichsmethoden	Normalbereich	Pathologisch erniedrigter SChE-Aktivitätsbereich
Kalow/Δ_6-Merckotest	r_{k,Δ_6} = o,771	r_{k,Δ_6} = o,67o
	$s_{k(\Delta_6)}$ = ±12,62	$s_{k(\Delta_6)}$ = ± 1o,85/$\bar{\Delta}$Ex1ooo/3 min/
Kalow/Δ_8-Merckotest	r_{k,Δ_8} = o,815	$r_{k(\Delta_8)}$ = o,665
	$s_{k(\Delta_8)}$ = ± 11,46	$s_{k(\Delta_8)}$ = ± 1o,95/$\bar{\Delta}$Ex1ooo/3 min/

Aus der Gegenüberstellung der Korrelationskoeffizienten könnte man folgern, daß die Übereinstimmung der Meßwerte der Δ_6- und Δ_8-Merckotestmethode mit den Meßwerten der Kalow-Methode im pathologisch erniedrigten SChE-Aktivitätsbereich schlechter ist als im Normalbereich. Wegen der Verschiedenheit der Varianzen $s_{k_i}^2$ der Kalowwerte im Normalbereich ($s_{k_n}^2$ = 391,81) und im pathologisch erniedrigten SChE-Aktivitätsbereich ($s_{k_p}^2$ = 2o7,27) ist diese Folgerung

jedoch nicht zulässig. Der Korrelationskoeffizient $r_{k,x}$ hängt nicht nur von der Streuung der Meßwerte um die Regressionsgerade $y_{k(x)}$ ab, sondern auch von der Varianz s_k^2. Ein Maß für die Übereinstimmung der Meßwerte ist der Standardfehler der Schätzung von k durch x. Der Vergleich der Standardfehler $s_{k(\Delta_6)}$ und $s_{k(\Delta_8)}$ ergibt, daß die Meßwerte der Δ_6- und Δ_8-Merckotestmethode mit den Meßwerten der Kalowmethode im pathologisch erniedrigten SChE-Aktivitätsbereich genauso gut, z.T. noch besser übereinstimmen als im Normalbereich. So ist der Standardfehler der Schätzung von k durch Δ_6 im Normalbereich ± 12,62 /ΔEx1ooo/3 min/, im pathologisch erniedrigten SChE-Aktivitätsbereich dagegen nur ± 1o,85/ΔEx1ooo/3min/.

Die Regressionsgeraden:

$$y_{k(\Delta_6)} = 13,71\Delta_6 + 1o,79 \qquad \text{(Abb.19)}$$

$$y_{k(\Delta_8)} = 1o,94\Delta_8 + 9,96 \qquad \text{(Abb.19)}$$

geben im pathologisch erniedrigten SChE-Aktivitätsbereich die Beziehung der Meßwerte der Δ_6- bzw. Δ_8-Merckotestmethode zu den Meßwerten der Kalowmethode wieder.

Für die Regressionskoeffizienten, Regressionsgeraden und für eine neue Beobachtung lassen sich unter den gleichen Voraussetzungen wie im Normalbereich Vertrauensbereiche berechnen. Man erhält:

a) Vergleichsmethoden: Kalow/Δ_6-Merckotest:

1.) 95 % Vertrauensbereich für den Regressionskoeffizienten B_{k,Δ_6} ($b_{k,\Delta_6} = 13,71o$):

$$\text{Konf}_{o,95}\left\{ 6,18 \leq B_{k,\Delta_6} \leq 21,24 \right\}$$

2.) 95 % Vertrauensbereich für die Regressionsgerade:

$$\text{Konf}_{o,95}\left\{ y_{k(\Delta_6)} \pm 22,o255\sqrt{o,o261 + \frac{(\Delta 6_o - 2,23)^2}{17,3o}} \right\}$$

3.) 95 % Vertrauensbereich für eine neue Beobachtung (Δ_{6_o}, k_o):

$$\text{Konf}_{o,95}\left\{ y_{k(\Delta_{6_o})} \pm 22{,}0255\sqrt{1{,}0261 + \frac{(\Delta_{6_o} - 2{,}23)^2}{17{,}30}} \right\}$$

b) Vergleichsmethoden: Kalow/Δ_8-Merckotest:

1.) 95 % Vertrauensbereich für den Regressionskoeffizienten B_{k,Δ_8} (b_{k,Δ_8} = 10,942):

$$\text{Konf}_{o,95}\left\{ 6{,}005 \leq B_{k,\Delta_8} \leq 15{,}879 \right\}$$

2.) 95 % Vertrauensbereich für die Regressionsgerade:

$$\text{Konf}_{o,95}\left\{ y_{k(\Delta_8)} \pm 22{,}2346\sqrt{0{,}0261 + \frac{(\Delta_{8_o} - 2{,}87)^2}{26{,}64}} \right\}$$

3.) 95 % Vertrauensbereich für eine neue Beobachtung (Δ_{8_o}, k_o):

$$\text{Konf}_{o,95}\left\{ y_{k(\Delta_{8_o})} \pm 22{,}2346\sqrt{1{,}0261 + \frac{(\Delta_{8_o} - 2{,}87)^2}{26{,}64}} \right\}$$

In Abbildung 19 sind die Regressionsgeraden $y_{k(\Delta_6)}$ und $y_{k(\Delta_8)}$ mit den 95 % Vertrauensbereichen für eine neue Beobachtung dargestellt. Außerdem wurden die jeweils zusammengehörenden Meßwerte der Kalow- und der Δ_6- bzw. Δ_8-Merckotestmethode als Punkte in die x,y-Ebene eingetragen.
In Abbildung 20 sind die mit den Testpapiermethoden ermittelten SChE-Aktivitäten von 22 Hepatitisseren den mit der Kalowmethode erhaltenen Meßwerten gegenübergestellt. Die unteren und oberen Schranken der jeweiligen Übergangsbereiche $\langle x_u, x_{2o} \rangle$ sind gestrichelt eingetragen.

V. Differenzierung der verschiedenen Gentypen mit dem Hemmtest nach Kalow und dem Suchtest nach Swift und La Du:

Mit dem Hemmtest nach Kalow werden die Serumcholinesterasen durch die Dibucainzahl (DN) in normale (bis auf sehr seltene Ausnahmen: Phaenotyp Ch_1UU), intermediäre (meist Phaenotyp Ch_1UD) und atypische Enzymvarianten (bis auf seltene Ausnahmen: Phaenotyp Ch_1DD) eingeteilt.

Tabelle 6:

Dibucainnummer		Normalseren	Klinikseren mit path. erniedrigter SChE-Akt.
normal:	≥ 75	537	21
	71-74	9 } 546 (99,1 %)	3 } 24 (75 %)
intermediär:	5o-7o	4	6
	4o-5o	1 } 5 (o,9 %)	1 } 8 (25 %)
	35-4o		
	3o-35		1
atypisch:	< 3o		

In Tabelle 6 sind die 551 untersuchten Normalseren und 32 ausgewählte Klinikseren mit pathologisch erniedrigter SChE-Aktivität nach ihren Dibucainzahlen aufgegliedert.
Unter den 551 Normalseren wurden o,9 % intermediäre SChE-Varianten festgestellt. Eine atypische Enzymvariante war nicht darunter.
Von den 32 Klinikseren hatten 25 % eine DN zwischen 3o - 7o. Es handelte sich bei diesen Seren jedoch um ausgewähltes Untersuchungsgut.

Der Suchtest nach Swift und La Du ist ein screening test für atypische SChE-Varianten und für Seren mit stark erniedrigter SChE-Aktivität. Bei den Vergleichsmessungen fiel der Test positiv aus bei Seren mit einer Enzymaktivität < 3o /$\bar{\Delta}$Ex1ooo/3 min/. Es ist aber bei Seren mit sehr stark erniedrigter SChE-Aktivität oft nicht sicher zu entscheiden, ob der Test als positiv oder negativ zu bewerten ist. Eine genauere Differenzierung der verschiedenen Gentypen ist mit dem Test nach Swift und La Du nicht möglich.

D. Diskussion:

Statistische Untersuchungen mit der Acholest-Testpapiermethode sind schon von mehreren Autoren durchgeführt worden. S.Sailer und H.Braunsteiner (34, 35), Z.Jabsa, M.Schoenfelder und H.Breuer (2o), H.C.Churchill-Davidson und W.J.Griffiths (4) und R.Richterich (33) berichten über SChE-Aktivitätsmessungen mit der Acholestmethode. St.Schmidinger und A.Doenicke (36) stellten die Acholestmethode der spektrophometrischen Methode nach Kalow gegenüber. Sie führten Vergleichsmessungen an 722 Klinikseren durch. An Hand von 686 SChE-Aktivitätsbestimmungen berechneten sie für die Kalowmethode einen mittleren Aktivitätswert von $\bar{k}$ = 99,45 /Δ Ex1ooo/3 min/, eine Standardabweichung von $s_k = \pm$ 37,34 /Δ Ex1ooo/3 min/ und für die Testpapiermethode Acholest einen mittleren Aktivitätswert von $\bar{a}$ = 17,6o / min/, eine Standardabweichung von $s_a = \pm$ 1o,29 / min/. Die Werte für die Standardabweichungen s_k und s_a und der mittlere Aktivitätswert der Acholestmethode unterscheiden sich signifikant von den in dieser statistischen Untersuchung ermittelten Werten. Die unterschiedlichen Ergebnisse sind vielleicht dadurch erklärbar, daß Schmidinger und Doenicke für ihre Messungen Klinikseren benutzten, darunter viele Seren mit pathologisch erniedrigter und pathologisch erhöhter SChE-Aktivität, während die Messungen dieser Arbeit an Seren von klinisch gesunden Personen durchgeführt wurden.

Durch die relativ große Anzahl von Meßwerten < 61 /Δ Ex1ooo/3 min/ bzw. > 21 / min/ gruppieren sich bei Schmidinger und Doenicke die in der x,y-Ebene eingetragenen, zusammengehörenden Meßwerte der 686 SChE-Aktivitätsbestimmungen angenähert um eine Hyperbel. Schmidinger und Doenicke vergleichen deswegen nur die $\frac{1ooo}{a}$ - Meßwerte der Acholestmethode mit den entsprechenden Werten der Kalowmethode. Sie berechnen dabei einen Korrelationskoeffizienten von $r_{\frac{1ooo}{a},\ k}$ = o,79. Dieser Wert entspricht dem in dieser Arbeit ermittelten Wert von $r_{\frac{1oo}{a},\ k}$ = o,8o.

Von R.Richterich (33) wird beim Acholest-Test als Normalbereich 5 - 19 min angegeben. Nach Schmidinger und Doenicke (36) sind sicher pathologisch erniedrigte Werte bei der spektrophotometrischen Methode nach Kalow unter 64 /Δ Ex1ooo/3 min/ und bei der Acholest-Testpapiermethode über 23 min anzunehmen. Als Übergangswerte von normaler

zu pathologisch erniedrigter SChE-Aktivität geben Schmidinger und Doenicke 82 /ΔEx1ooo/3 min/ bzw. 18 /min/ an. Nach den Messungen und statistischen Berechnungen dieser Arbeit ist der Übergangsbereich von normaler zu pathologisch erniedrigter SChE-Aktivität bei der Kalowmethode: 77-61 /ΔEx1ooo/3 min/, bei der Acholestmethode: 15-21 /min/. SChE-Aktivitätswerte unter 61 /ΔEx1ooo/3 min/ bzw. über 21 /min/ sind als pathologisch sicher erniedrigte Enzymaktivitäten anzusehen.

Über Meßversuche mit der Merckotestmethode berichten A. Härtel, W. Gross und H. Lang (12) aus der biochemischen Abteilung der Firma Merck AG., Darmstadt. Sie führten an 1o1 Blutspenderseren Vergleichsmessungen mit der Merckotestmethode und mit einer Cholinesterase-Titrationsmethode durch. Dabei berechneten sie für die beiden Meßreihen einen Korrelationskoeffizienten von r = o,92. Im Vergleich zur Titrationsmethode lieferte das Testpapier im Mittel um ± o,5 /U/ml/ abweichende Ergebnisse, wobei die erzielte Genauigkeit etwas vom Untersucher abhing. Als Normalbereich für die SChE-Aktivität bei der Merckotestmethode geben die Autoren an: 3,o - 5,7 /U/ml/ (Acetylcholin, 37°C, pH 7,5). Nach unseren Untersuchungen und Berechnungen ist der Bereich für normale SChE-Aktivität: 3,o - 7,5 /U/ml/.

A. Härtel, W. Gross und H. Lang (12) geben in ihrer Arbeit an, daß bei der Merckotestmethode die Inkubationszeit von 6 /min/ optimal ist. Nach unseren statistischen Berechnungen erhält man aber im Normalbereich bei einer Inkubationszeit von 8 /min/ eine etwas bessere Übereinstimmung der Meßwerte der Merckotestmethode mit den Meßwerten der exakten spektrophotometrischen Methode nach Kalow als bei einer Inkubationszeit von 6 /min/. Die entsprechenden Korrelationskoeffizienten sind $r_{k,\,6}$ = o,771 und $r_{k,\,8}$ = o,815.

Nach Angaben von H.W.Goedde et al. (9) beträgt die mittlere Häufigkeit von Personen mit intermediären DN-Werten 3 - 4 %; die dibucainresistente Enzymvariante wird entsprechend einmal unter

2500 bis 4000 Personen angetroffen. Aus Untersuchungen in verschiedenen Ländern geht hervor, daß das Allel Ch_1^D nicht in allen Populationen gleich häufig vorkommt. Unter 2017 Personen in Kanada wurde der Phaenotyp Ch_1UD in 3,4 % der Fälle, unter 453 Personen in Südwestdeutschland in 2,9 % der Fälle und unter 104 Personen in Australien in 1 % der Fälle festgestellt, Jüngste Untersuchungen von Goedde et al. (9) ergaben keinen Anhalt für das Auftreten des Allels Ch_1^D in der japanischen und thailändischen Bevölkerung. Schmidinger und Doenicke (36) entdeckten unter 704 Personen in Süddeutschland in 0,84 % der Fälle eine intermediäre und einmal eine atypische SChE-Variante. Bei unseren Untersuchungen wurde unter 551 Personen in Süddeutschland in 0,9 % der Fälle eine intermediäre DN-Nummer festgestellt. Eine atypische Enzymvariante wurde nicht gefunden.

Der Suchtest nach Swift und La Du fällt positiv aus bei atypischen SChE-Varianten und bei Seren mit sehr stark erniedrigter SChE-Aktivität. Alle positiven Fälle sind verdächtig für eine verlängerte Apnoe nach Succinyldicholinapplikation. Auch die Papierstreifentests Acholest, Δ_8-, Δ_6-Merckotest können als screening test für die dibucainresistente SChE-Variante und für Seren mit stark erniedrigter SChE-Aktivität verwendet werden. Da die enzymatische Aktivität des dibucainresistenten Enzyms stark erniedrigt ist (mittlere Aktivität nach Goedde et al.(9):38 ΔE x1000/3 min), sind alle Personen mit einer SChE-Aktivität von

3,0	U/ml	(Δ_6-Merckotestmethode)
4,0	U*	(Δ_8-Merckotestmethode)
21	min	(Acholestmethode)

als positiv, und damit als verdächtig für eine verlängerte Apnoe nach Succinyldicholinapplikation zu bezeichnen. Außerdem ist bei diesen Personen die Belastbarkeit und Leistungsfähigkeit der Leber sicherlich herabgesetzt. In allen solchen Fällen sollte deshalb vor Operationen eine genauere Bestimmung der SChE-Aktivität und der DN vorgenommen werden.

Die Aktivitätsbestimmungen an den Hepatitisseren zeigen, daß bei der Hepatitis die SChE-Aktivitäten meist innerhalb des Normalbereichs bleiben. Nur bei Patienten mit chronischer Hepatitis und Leberparenchymschaden wurden z.T. stark erniedrigte SChE-Aktivitäten gefunden. Nach Doenicke und Schmidinger (7) ist bei der Hepatitis und bei anderen Lebererkrankungen vor allem die fortlaufende Kontrolle des SChE-Spiegels wertvoll. Sie gibt Anhaltspunkte für eine Beurteilung der Prognose des Krankheitsverlaufes. Bei deutlich erniedrigter SChE-Aktivität ist immer ein schwerer und protahierter Krankheitsverlauf zu erwarten.

E. Zusammenfassung:

Bei 531 Blutspendern und 78 Klinikpatienten wurden Parallelbestimmungen der SChE-Aktivität mit der spektrophotometrischen Methode nach Kalow und den Papierstreifentests Acholest und Merckotest vorgenommen und statistisch ausgewertet. Von allen untersuchten Seren wurde die Dibucainnummer mit dem Hemmtest nach Kalow bestimmt. Außerdem wurden Vergleichsmessungen mit dem Suchtest der atypischen SChE-Varianten nach Swift und La Du durchgeführt.
Die Untersuchungen und statistischen Berechnungen ergaben folgende Ergebnisse:

1.) Der mittlere methodische Meßfehler beträgt

a) bei der Kalowmethode: $\bar{s}_{k\%} = \pm 1{,}6\ \%$

b) bei der Acholestmethode: $\bar{s}_{a\%} = \pm 5{,}2\ \%$

c) bei der Δ_6-Merckotestmethode: $\bar{s}_{\Delta_6\%} = \pm 6{,}7\ \%$

d) bei der Δ_8-Merckotestmethode: $\bar{s}_{\Delta_8\%} = \pm 6{,}2\ \%$

2.) Spezielles zur Merckotestmethode:

a) Die gedruckten Farbbänder, die den Merckotestpackungen beiliegen, stimmen nicht alle in den Farbtönen und in der Eichung überein. Durch Benutzung verschiedener Farbbänder können bei SChE-Aktivitätsbestimmungen mit der Δ_6-Merckotestmethode Meßdifferenzen bis zu 45 % und bei Aktivitätsbestimmungen mit der Δ_8-Merckotestmethode Meßdifferenzen bis zu 41 % auftreten.
Bei Messungen mit der Merckotestmethode muß deswegen darauf geachtet werden, daß die Farbbänder, die für die Messung benutzt werden, in den Farbtönen und in der Eichung übereinstimmen.

b) Die SChE-Aktivitätsbestimmungen mit der Merckotestmethode sind von der Tropfengröße der zu testenden Seren abhängig. Bei Parallelbestimmungen mit Tropfengrößen von o,o25 ml bis o,1oo ml ergaben sich für die Δ_6- und Δ_8-Merckotestmethode maximale Meßdifferenzen bis zu 31 %. Die Messungen mit der Merckotestmethode sollten nur mit Tropfengrößen von o,o25 bis o,o35 ml durchgeführt werden.

3.) Der Bereich für normale SChE-Aktivität ist:

a) bei der Kalowmethode: 61 - 15o /ΔEx1ooo/3 min/

b) bei der Acholestmethode: 6,5 - 21 /min/

c) bei der Δ_6-Merckotestmethode: 3,o - 7,5 /U/ml/

d) bei der Δ_8-Merckotestmethode: 4,o - 1o,o /U*/

4.) Nach Elimination des methodischen Meßfehlers liegt mit Sicherheit pathologisch erniedrigte SChE-Aktivität vor, wenn:

a) $k < 61$ /ΔEx1ooo/3 min/ (Kalowmethode)

b) $a > 21$ /min/ (Acholestmethode)

c) $\Delta_6 < 3,o$ /U/ml/ (Δ_6-Merckotestmethode)

d) $\Delta_8 < 4,o$ /U*/ (Δ_8-Merckotestmethode)

5.) Der Übergangsbereich für normale und pathologisch erniedrigte SChE-Aktivität ist:

a) bei der Kalowmethode: 77 - 61 /ΔEx1ooo/3 min/

b) bei der Acholestmethode: 15 - 21 /min/

c) bei der Δ_6-Merckotestmethode: 4,o - 3,o /U/ml/

d) bei der Δ_8-Merckotestmethode: 5,5 - 4,o /U*/

6.) Die Verteilungen der Meßwerte der Δ_6-Merckotest- und Kalowmethode kommen einer Normalverteilung am nächsten. Am stärksten weicht die Verteilung der Acholestmeßwerte von einer Normalverteilung ab.

7.) Zwischen den Meßwerten der Kalowmethode und den Meßwerten der Methoden Acholest, Δ_6-Merckotest und Δ_8-Merckotest besteht im Normalbereich eine gute Korrelation. Am besten ist im Normalbereich die Korrelation der Kalowwerte zu den Δ_8-Merckotestwerten, am schlechtesten zu den Δ_6-Merckotestwerten. Die Korrelationskoeffizienten r_{k,Δ_8} und r_{k,Δ_6} unterscheiden sich aber„ nicht sicher signifikant".

8.) Die Abhängigkeit der Meßwerte der Kalowmethode von den Meßwerten der Testpapiermethoden lässt sich im Normalbereich angenähert darstellen durch die Regressionsgeraden:

a) $y_{k(a)} = -5{,}02\,a + 161{,}7$ (Acholestmethode)

b) $y_{k(\Delta_6)} = 15{,}036\,\Delta_6 + 2{,}66$ (Δ_6-Merckotestmethode)

c) $y_{k(\Delta_8)} = 12{,}616\,\Delta_8 + 15{,}07$ (Δ_8-Merckotestmethode)

9.) Die Meßwerte der Δ_8-Merckotestmethode stimmen im pathologisch erniedrigten SChE-Aktivitätsbereich genauso gut mit den Meßwerten der Kalowmethode überein wie im Normalbereich; die Übereinstimmung der Δ_6-Merckotestwerte mit den Kalowwerten ist im pathologisch erniedrigten SChE-Aktivitätsbereich sogar noch etwas besser. So ist der Standardfehler der Schätzung von k durch Δ_6 im Normalbereich $\pm$ 12,62 $\sqrt{\Delta}$Ex1ooo/3 min$\overline{\ }$, im pathologisch erniedrigten SChE-Aktivitätsbereich dagegen nur $\pm$ 1o,85 $\sqrt{\Delta}$Ex1ooo/3 min$\overline{\ }$.

1o.) Vor allem bei Messungen im pathologisch erniedrigten SChE-Aktivitätsbereich ist die Merckotestmethode der Acholestmethode technisch überlegen. Während mit der Acholestmethode für solche SChE-Aktivitätsbestimmungen oft Meßzeiten von weit über 21 min erforderlich sind, kommt man mit der Merckotestmethode bei Meßzeiten von 6 bzw. 8 min zu gleich guten Meßergebnissen.

Literaturverzeichnis

1. ALLES, G.A., und R.C. HAWES: Cholinesterase in the blood of men. J. biol. Chem. 133, 375 (1940)

2. AMMON, R., und F.J. ZAPP: Eine einfache klinisch-chemische Methode zum Nachweis der Cholinesterase im Serum. Klin.Wschr. 33, 759 (1955)

3. BREUER, H., und M.SCHOENFELDER: Untersuchungen über die Beteiligung der Cholinesterase und Acetylcholinesterase an der Spaltung von Acetylcholin im Serum. Clin.chim. Acta 6, 515 (1961)

4. CHURCHILL-DAVIDSON, H.C., and W.J. GRIFFITHS: Simple Test-paper method for the clinical determination of plasma pseudocholinesterase. Brit.Med. J. 14, 994 (1961)

5. DOENICKE, A., und F.HOLLE: Das Verhalten der Leberfunktion im postoperativen Schock. Fortschr. Med., 80, 253 (1962)

6. DOENICKE, A., F.HOLLE, und H.H. FREY: Praktische Bedeutung der Plasmacholinesterasebestimmung und ihres atypischen Verhaltens gegenüber Succinylcholin. Anaesthesist, 11, 146 (1962)

7. DOENICKE, A., und St.SCHMIDINGER: Der diagnostische Wert der Serumcholinesterasebestimmung. Med.Klin. 60, 2012 (1965)

8. DOENICKE, A., St. SCHMIDINGER und J.KRUMEY: Suxamethonium and Serumcholinesterase. Brit.J.Anaesth., 40, 1968 (in press)

9. GOEDDE, H.W., A.DOENICKE und K. ALTLAND: Pseudocholinesterasen. Pharmakogenetic, Biochemie, Klinik. Springer, Berlin-Heidelberg-New York, (1967)

10. GROB, D.: Anticholinesterase intoxication in man and its treatment. Handbuch der experimentellen Pharmakologie, 15, George B.Koelle, Springer, Berlin-Heidelberg-New York (1963)

11. GÄRTNER, Th., G. KREUTZBERG und A.DOENICKE: Komparative studies on cholinesterase activity in serum and liver cells.
Acta Anaesth. Scandinav., 7, 69 (1963)

12. HÄRTEL, A., W.GROSS und H.LANG: Schnellbestimmung der Cholinesterase. Z. klin.Chem. u. klin.Biochem. 5, 26 (1967)

13. HARGREAVES, A.E., A.BARBOSA, y H.G. DA SILVA: Titrimetric determination of cholinesterase in blood serum.
Hospital (Rio de J.), 55, 99 (1959)

14. H. HAUPT, K.HEIDE, O.ZWISLER und H.G. SCHWICK: Isolierung und physikalisch-chemische Charakterisierung der Cholinesterase aus Humanserum.
Blut, 14, 65 (1966)

15. HOLMSTEDT, B.: Structure-activity relationships of the organphosphorus anticholinesterase agents.
Handbuch der experimentellen Pharmakologie, 15, George B. Koelle, Springer, Berlin-Heidelberg-New York (1963)

16. HESTRIN, S.: The reaction of acetylcholine and carboxylic acid derivatives with hydroxylamine, and its analytical application.
J. biol. Chem. 18o, 249 (1949)

17. HOLLE, F.: Bestimmung der Plasmacholinesteraseaktivität als prognostischer Test in der Chirurgie.
Langenbecks Arch. klin. Chir. 289, 696 (1958)

18. HOLLE, F., und A. DOENICKE: Cholinesterase in der Chirurgie.
Erg. Chir. 43, 77 (1961)

19. HUERGA, J.de la, C.YESINICK and H. POPPER: Colorimetric method for the determination of serum cholinesterase.
Amer. J. clin. Path. 22, 1126 (1952)

2o. JABSA, Z., M.SCHOENFELDER und H.BREUER: Vergleich zwischen der manometrischen und der Testpapiermethode zur Bestimmung der Cholinesteraseaktivität im Serum.
Klin.Wschr. 39, 966 (1961)

21. KALOW, W., and R.O. DAVIES: The activity of various esterase inhibitors towards atypical human serum cholinesterase.
Biochem. Pharmakol. 1, 183 (1958)

22. KALOW, W., and K.GENEST: A method for the detektion of atypical forms of human serum cholinesterase. Determination of dibucaine numbers.
Canad. J.Biochem. Physiol. 35, 339 (1957)

23. KALOW, W., and H.A. LINDSAY: A comparison of optical and manometric methods for the assay of human serum cholinesterase.
Canad. J.Biochem. Physiol. 33, 568 (1955)

24. KNEDEL, M., und R. BÖTTGER: Eine kinetische Methode zur Bestimmung der Aktivität der Pseudocholinesterase.
Klin.Wschr. 45, 325 (1967)

25. KREYSZIG, E.: Statistische Methoden und ihre Anwendungen.
Vandenhoeck/Ruprecht, Göttingen (1967)

26. LONG, J.P.: Structure-activity relationships of the reversible anticholinesterase agents.
Handbuch der experimentellen Pharmakologie, 15,
George B. Koelle, Springer, Berlin-Heidelberg-New York (1963)

27. MENDEL, B.,and H. RUDNEY: Cholinesterase. Specific tests for true cholinesterase and pseudocholinesterase.
Biochem. J. 37, 473 (1943)

28. MENDEL, B., and H. RUDNEY: Studies on cholinesterase: Cholinesterase and pseudocholinesterase.
Biochem. J. 37, 59 (1943)

29. METCALF, R.L.: The colorimetric microestimation of human blood cholinesterases and its application to poisoning by organic phosphate insecticides.
J. econ. Ent. 44 , 883 (1951)

30. MICHEL, H.O.: An electrometric method for the determination of red blood cell and plasma cholinesterase activity.
J.Lab. clin. Med. 34, 1564 (1949)

31. MOLANDER, D.W., M.M. FRIEDMANN and J.S. La DUE: Serum cholinesterase in hepatic and neoplastic deseases.
Ann. intern. Med. 41, 1139 (1954)

32. RICHTER, D., and P.G.CROFT: Blood esterases.
Biochem. J. 36, 746,(1942)

33. RICHTERICH, R.: Bestimmung der Serumcholinesterase mit Hilfe eines Indikatorpapieres.
Schweiz.Med.Wschr. 92, 263 (1962)

34. SAILER, S., und H. BRAUNSTEINER: Über eine neue, sehr einfache Methode zur Bestimmung der Serumcholinesteraseaktivität und ihre klinische Bedeutung.
Klin.Wschr. 37, 986 (1959)

35. SAILER, S., und H.BRAUNSTEINER: Die Bedeutung der Bestimmung der Serumcholinesteraseaktivität.
Wien, Zschr.f.inn.Med., 4o, 172 (1959)

36. SCHMIDINGER, St., und A.DOENICKE: Die Serumcholinesterase. Eine Gegenüberstellung zweier Bestimmungsmethoden.
Z.f.klin.Chem., 4, 273 (1966)

37. STEFENELLI, N.: Die Korrelation zwischen dem Albumingehalt und der Cholinesteraseaktivität des Blutserums und ihre Beurteilung bei Albuminverlust.
Klin.Wschr. 39, 1o19 (1961)

38. SWIFT, M.R., and B.N. LA DU: A rapid screening test for atypical serum-cholinesterase.
Lancet I, 513 (1966)

39. VAN DER WAERDEN, B.L.: Mathematische Statistik.
Springer, Berlin-Heidelberg-New York (1965)

4o. WALLIS, W.A., and H.V. ROBERTS: Statistics, a new approach.
Free Press, Glencoe, Illinois (1966)

41. WERLE, E., und A. JOOS: Einfluß von Histamin und Bridal auf die Aktivität der Serum-, Erythrocyten- und Nerven-Cholinesterase.
Arztl.Forsch. 3, 61 (1949)

42. WERLE, E., und G.STÜTTGEN: Zur Kenntnis der Cholinesterase des Blutserums.
Klin.Wschr. 21, 821 (1942)

Abbildungen

Abb. 1

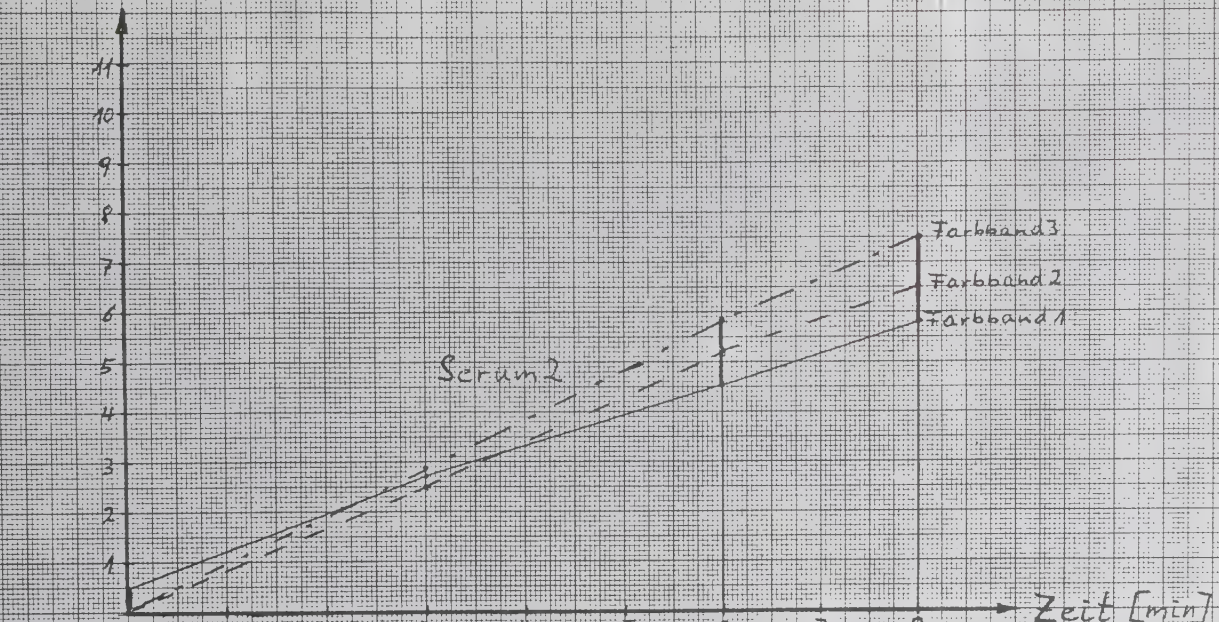

MercKotest [U/ml bzw. U*]
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
Farbband 3
Farbband 2
Farbband 1
Scrum 2
1
2
3
4
5
6
7
8
Zeit [min]

Abb. 2

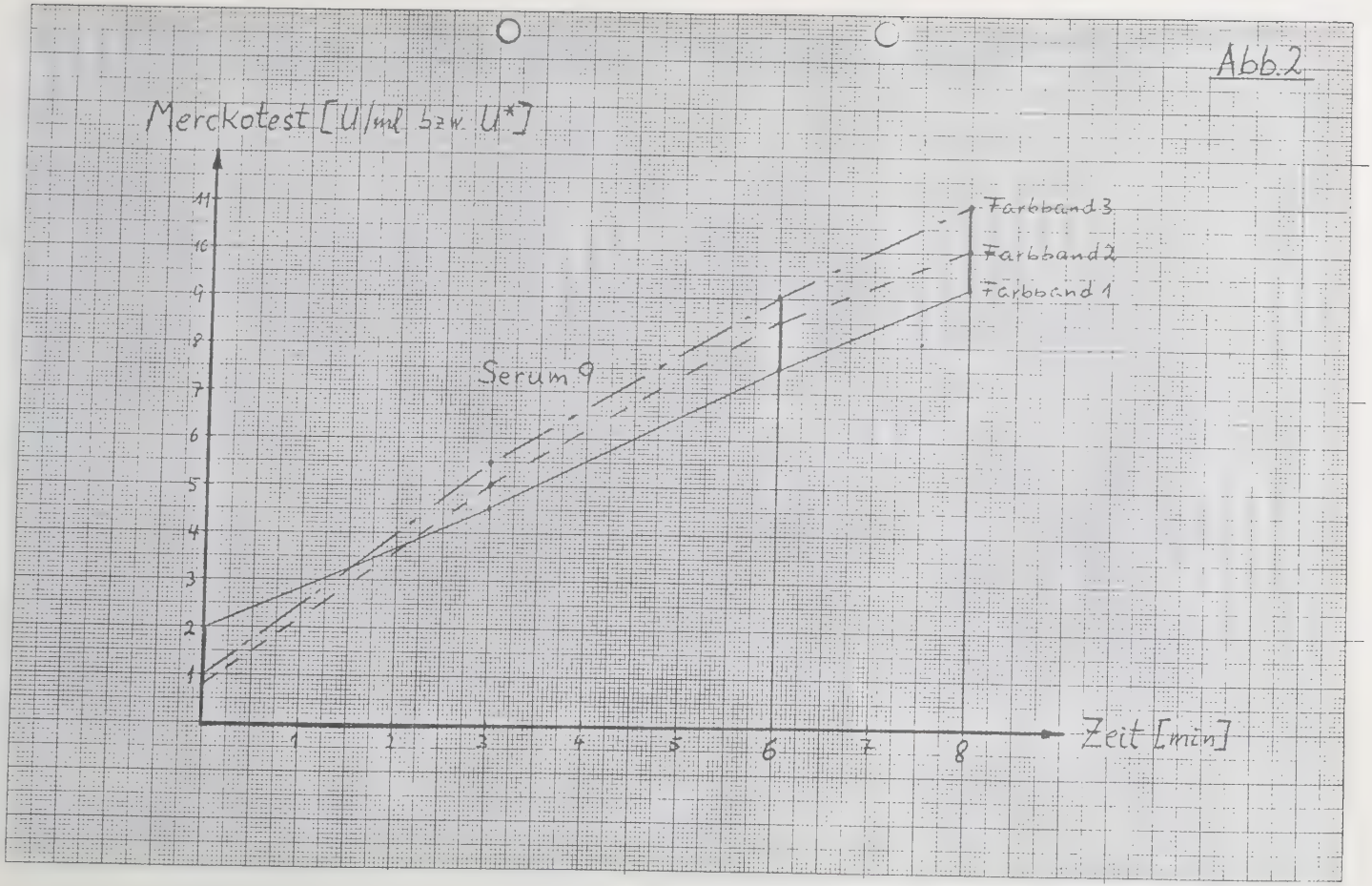
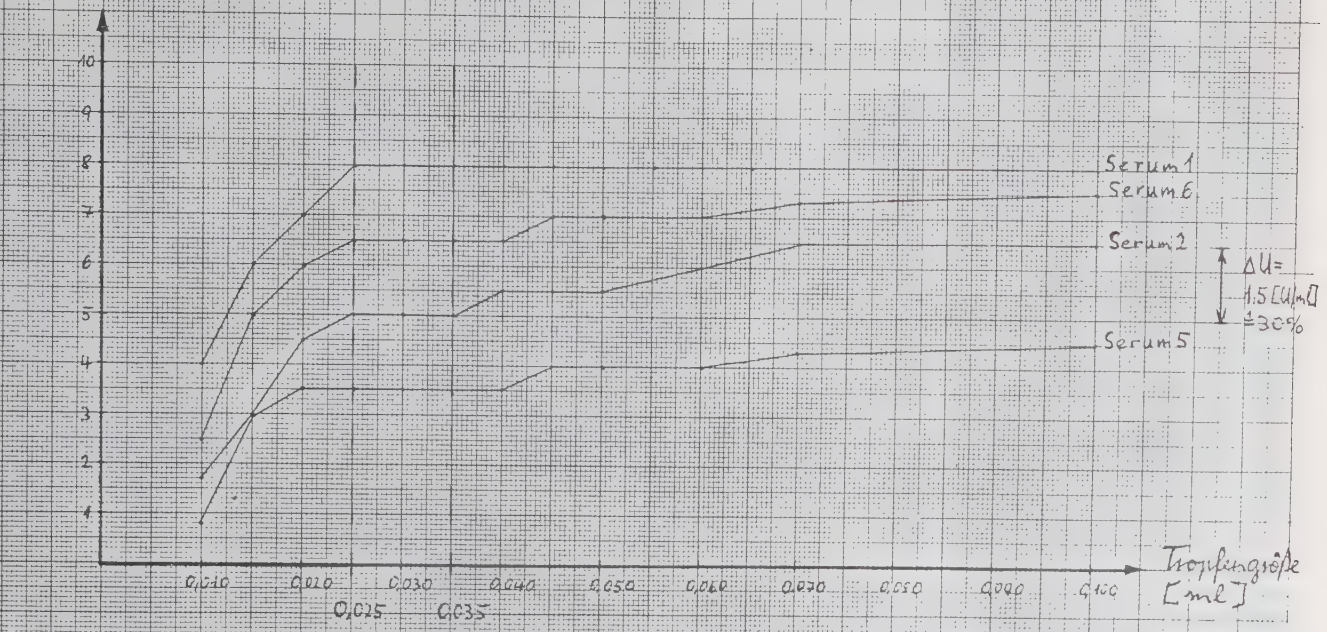

Merckotest [U/ml bzw. U*]
11
16
9
8
7
6
5
4
3
2
1
Serum 9
Farbband 3
Farbband 2
Farbband 1
1
2
3
4
5
6
7
8
Zeit [min]

Abb. 3


Δ6-Mercazotest [U/ml]
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
Serum 1
Serum 6
Serum 2
Serum 5
ΔU=
1,5 [U/ml]
±30%
0,010
0,020
0,025
0,030
0,035
0,040
0,050
0,060
0,070
0,080
0,090
0,100
Tropfengröße
[ml]

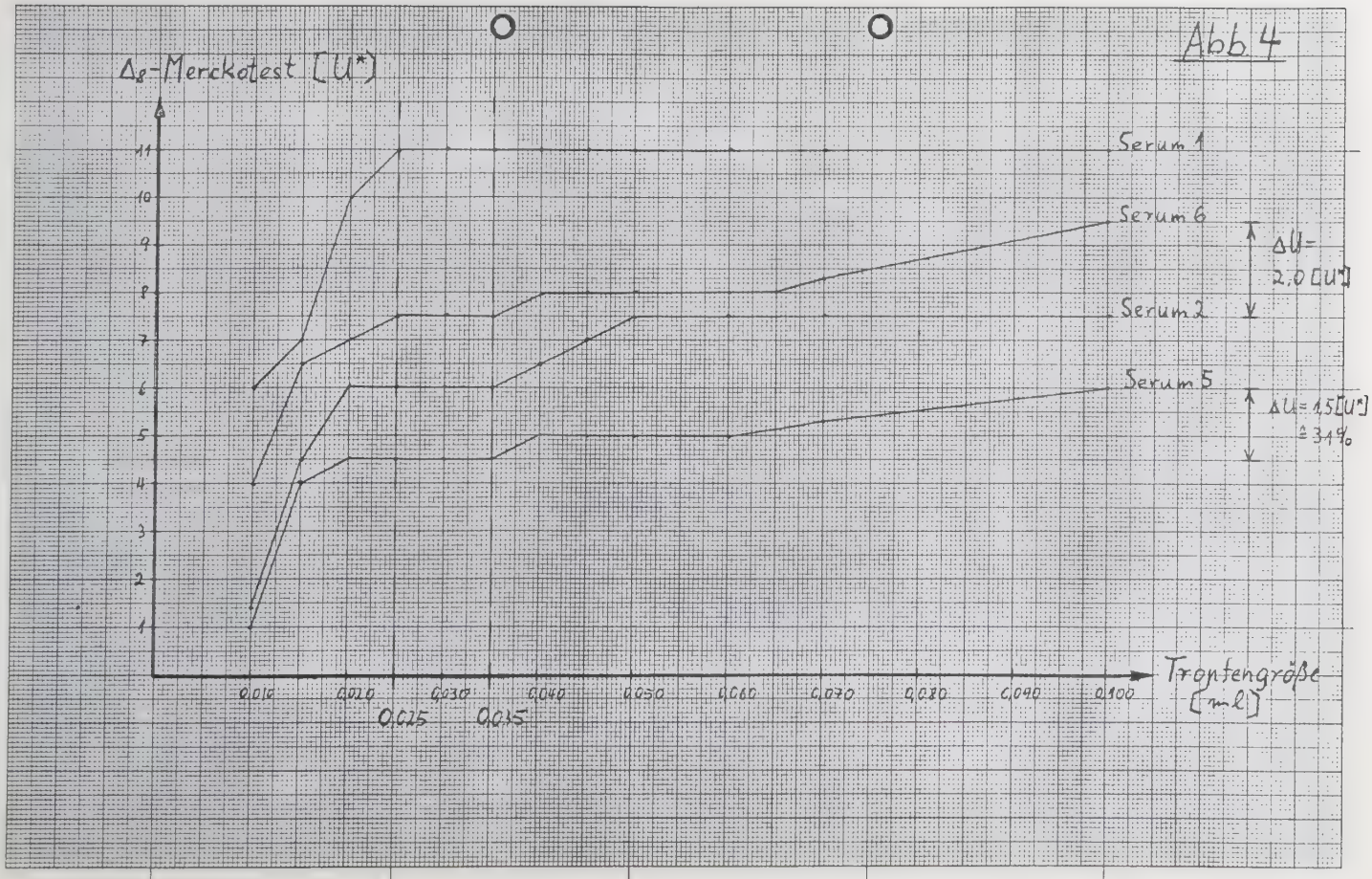
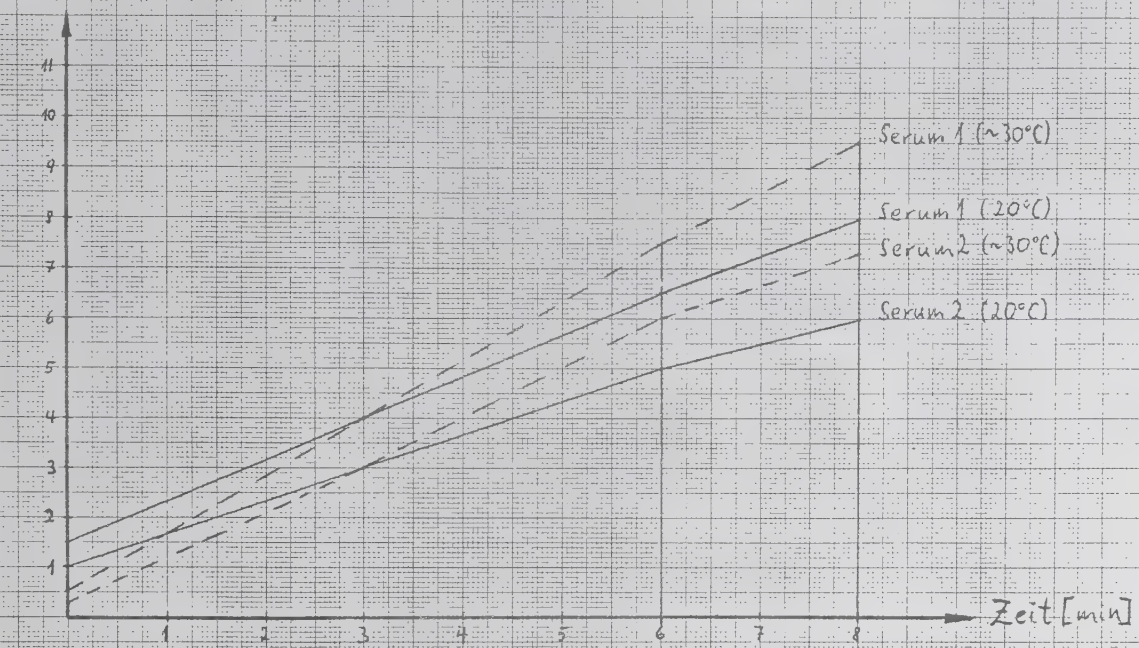


Abb 4
Δ8-Merckotest [U*]
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
Serum 1
Serum 6
Serum 2
Serum 5
ΔU= 2.0 [U*]
ΔU= 1,5 [U*]
≙ 31%
0,010
0,020
0,030
0,040
0,050
0,060
0,070
0,080
0,090
0,100
0,025
0,015
Tropfengröße [ml]

Abb. 5


Merckotest [U/ml]
11
10
9
8
7
6
5
4
3
2
1
Serum 1 (~30°C)
Serum 1 (20°C)
Serum 2 (~30°C)
Serum 2 (20°C)
1
2
3
4
5
6
7
8
Zeit [min]

A66 6

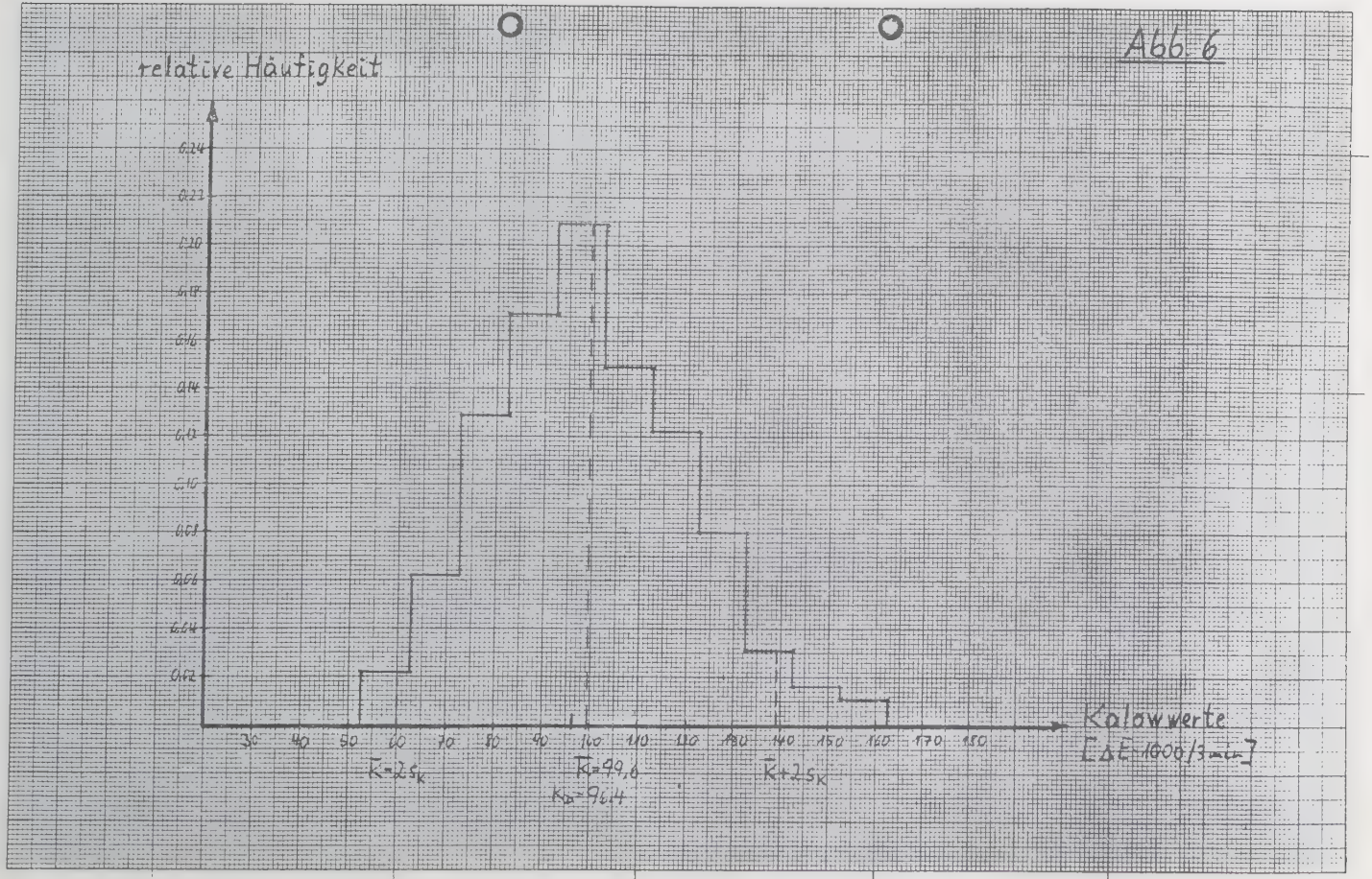

relative Häufigkeit
0,24
0,22
0,20
0,18
0,16
0,14
0,12
0,10
0,08
0,06
0,04
0,02
30
40
50
60
70
80
90
100
110
120
130
140
150
160
170
180
Kalowwerte
$\sum \Delta E = 1000/3 = 333$
$\bar{K}-2s_K$
$\bar{K}=99,6$
$K_D=96,4$
$\bar{K}+2s_K$

Abb. 7

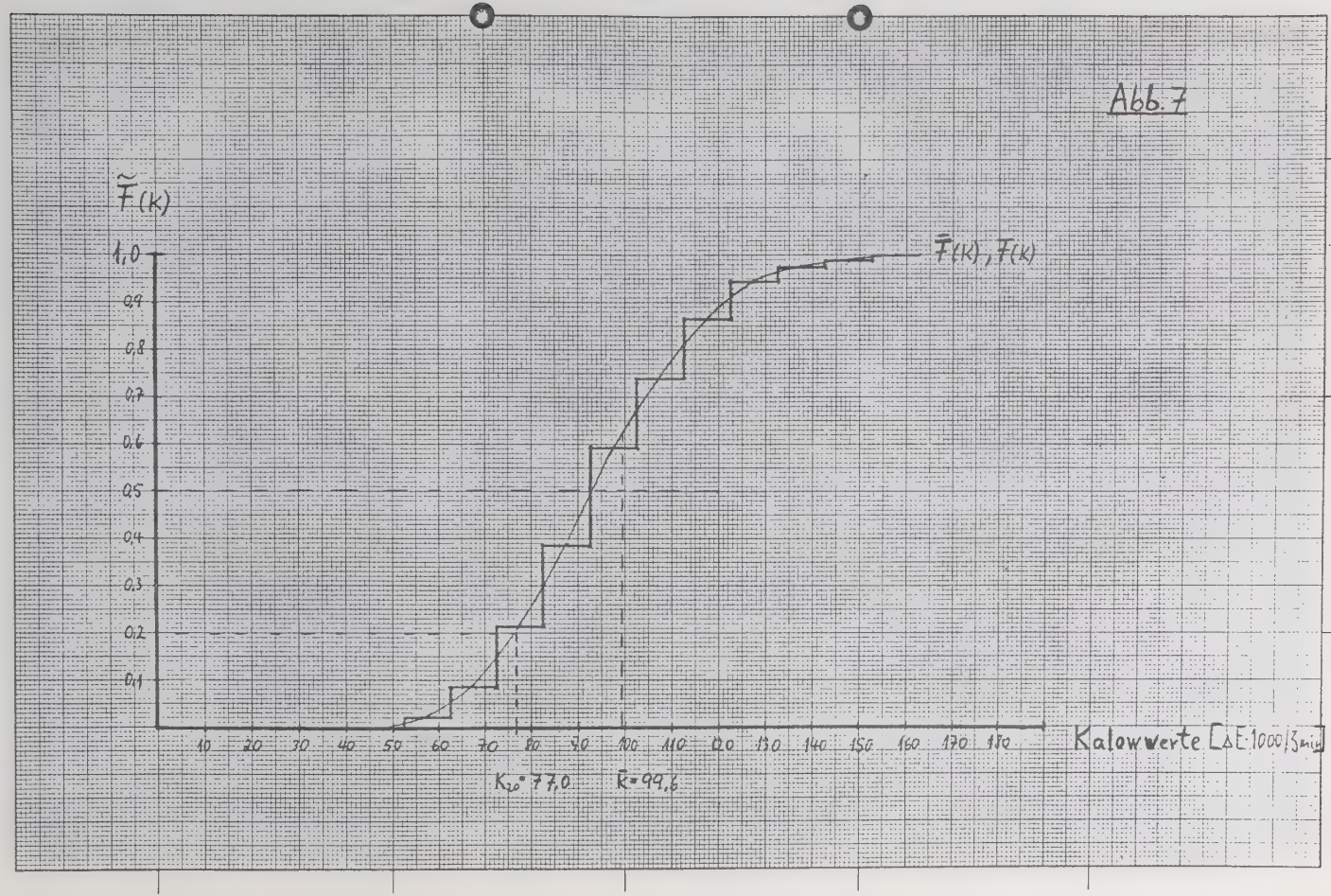
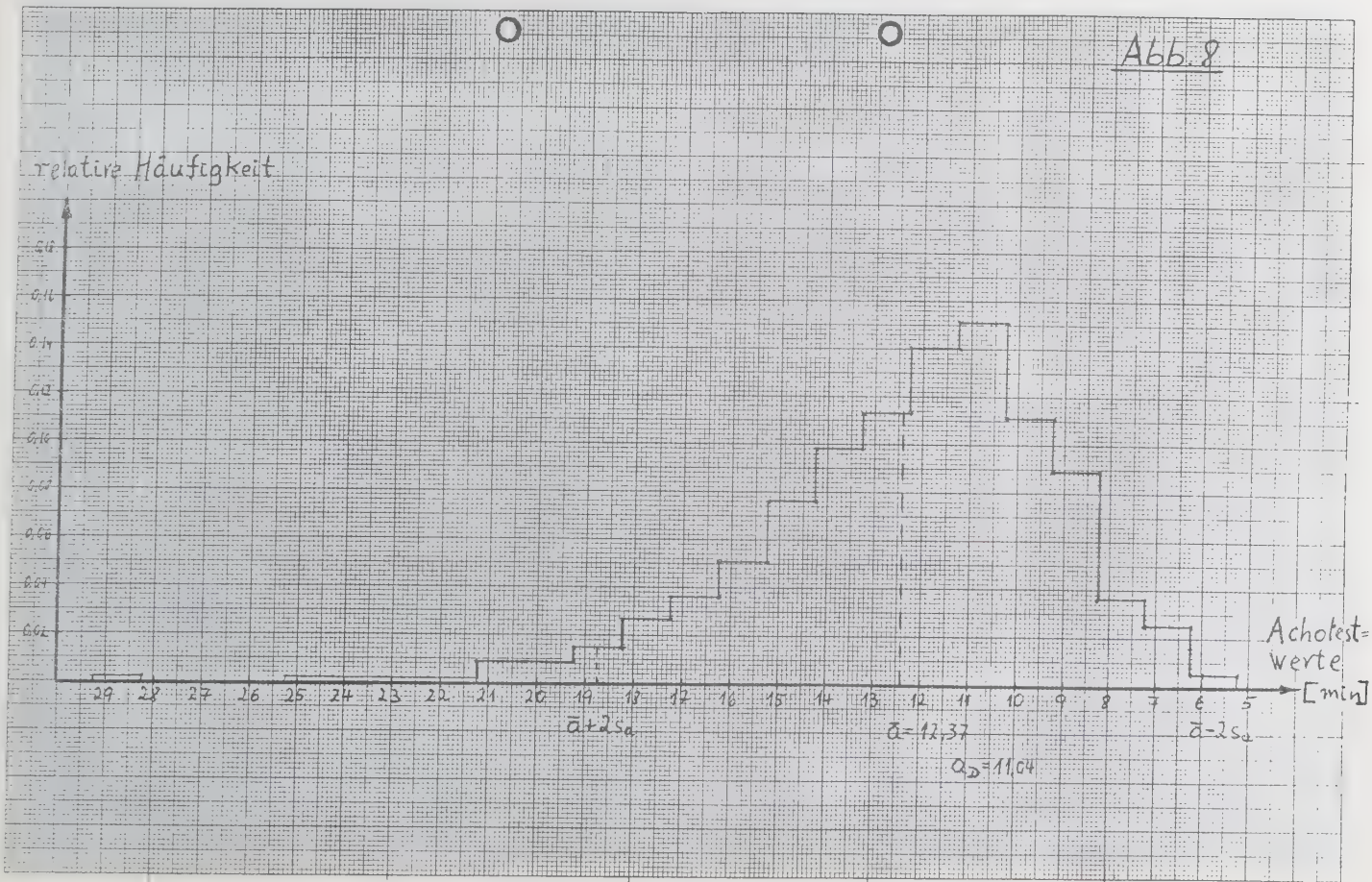

$\tilde{F}(K)$
1,0
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
$\tilde{F}(K), F(K)$
10 20 30 40 50 60 70 80 90 100 110 120 130 140 150 160 170 180
Kalowerte [ΔE·1000/3min]
$K_{20} = 77,0$
$\bar{K} = 99,6$

Abb. 8


relative Häufigkeit
0,16
0,14
0,12
0,10
0,08
0,06
0,04
0,02
29 28 27 26 25 24 23 22 21 20 19 18 17 16 15 14 13 12 11 10 9 8 7 6 5
Acholest=
werte
[min]
$\bar{a}+2s_a$
$\bar{a}=12,37$
$\bar{a}-2s_a$
$Q_D=11,04$

A55.9

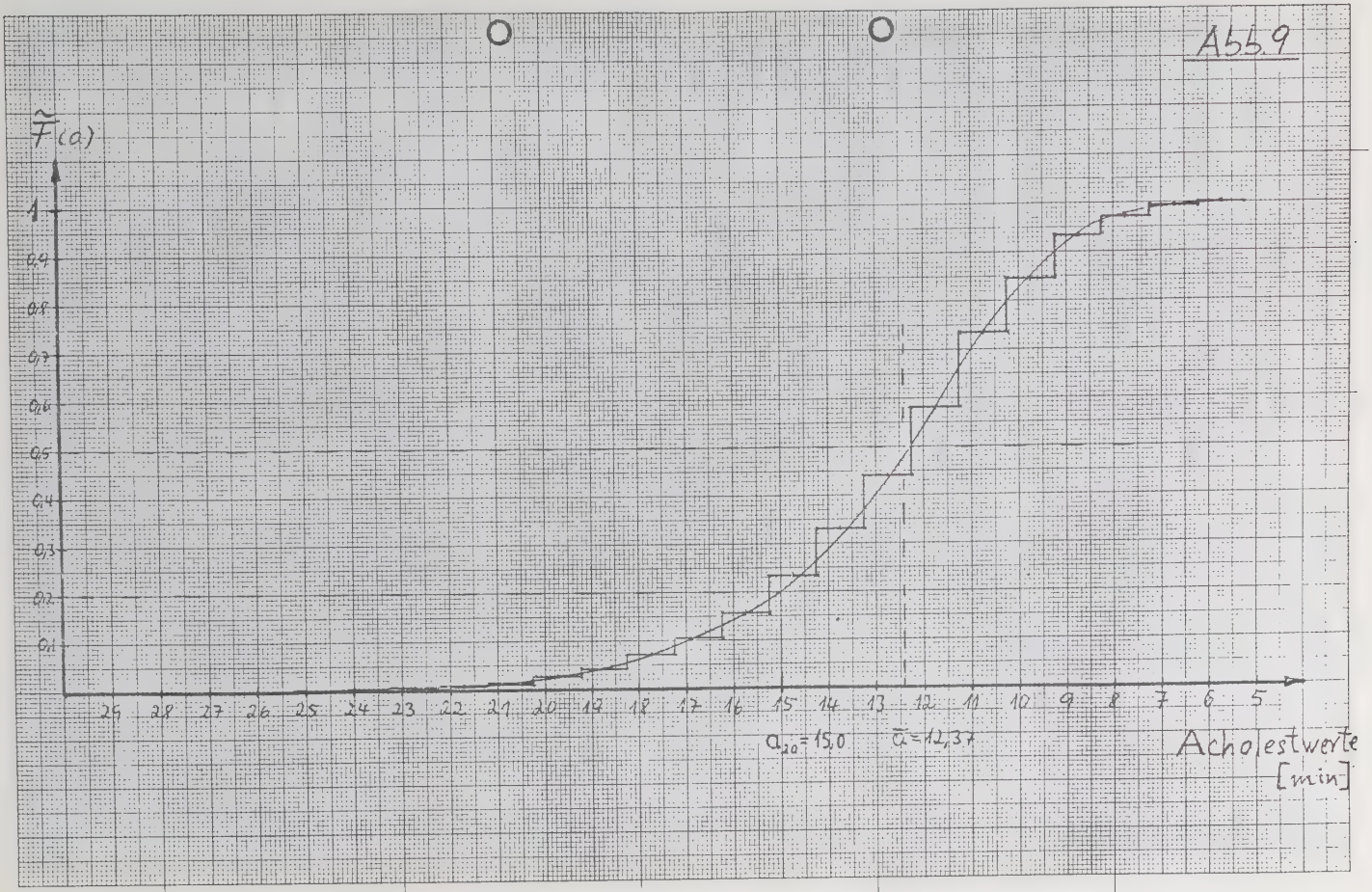

$\tilde{F}(a)$
1
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
25 24 23 22 21 20 19 18 17 16 15 14 13 12 11 10 9 8 7 6 5
$a_{20} = 15,0$
$\bar{a} = 12,37$
Acholestwerte [min]

Abb. 10

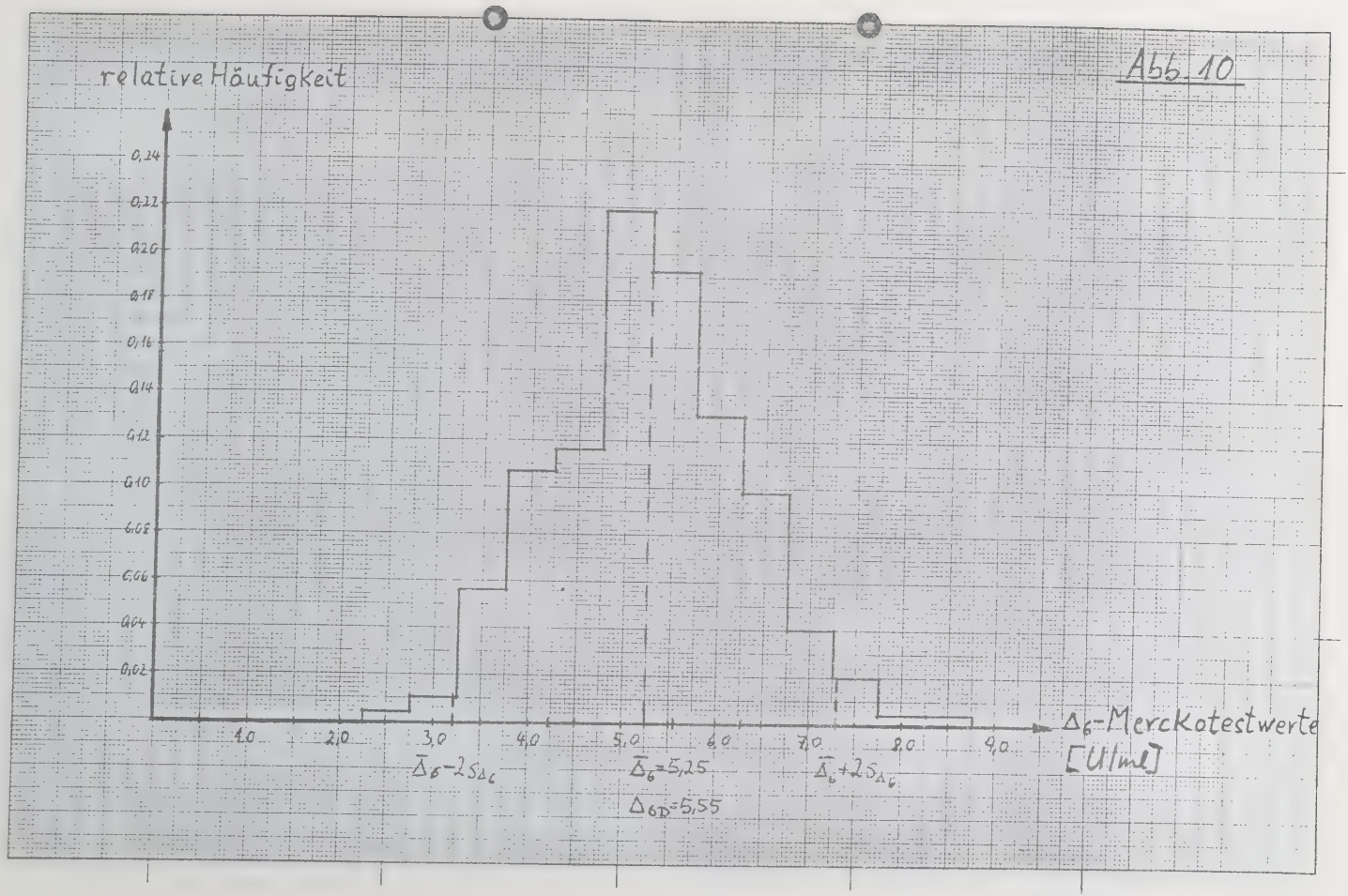

relative Häufigkeit
0,24
0,22
0,20
0,18
0,16
0,14
0,12
0,10
0,08
0,06
0,04
0,02
1,0
2,0
3,0
4,0
5,0
6,0
7,0
8,0
9,0
Δ_6-Merckotestwerte [U/ml]
$\bar{\Delta}_6 - 2s_{\Delta_6}$
$\bar{\Delta}_6 = 5{,}25$
$\Delta_{6D} = 5{,}55$
$\bar{\Delta}_6 + 2s_{\Delta_6}$

Abb. 11

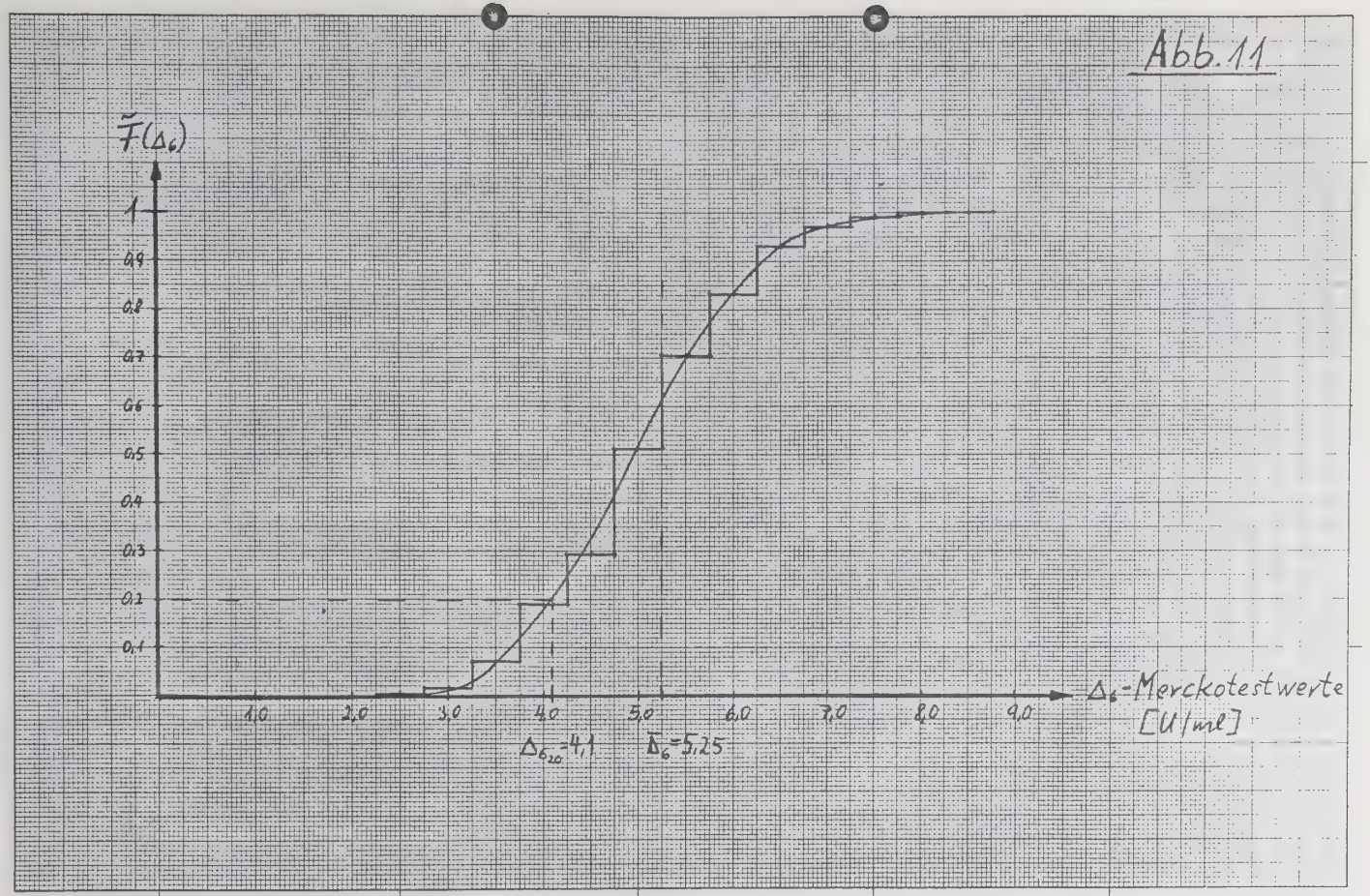

$\tilde{F}(\Delta_6)$
1
0,9
0,8
0,7
0,6
0,5
0,4
0,3
0,2
0,1
1,0
2,0
3,0
4,0
5,0
6,0
7,0
8,0
9,0
Δ_6-Merckotestwerte [U/ml]
$\Delta_{6_{20}}$=4,1
$\bar{\Delta}_6$=5,25

Abb. 12

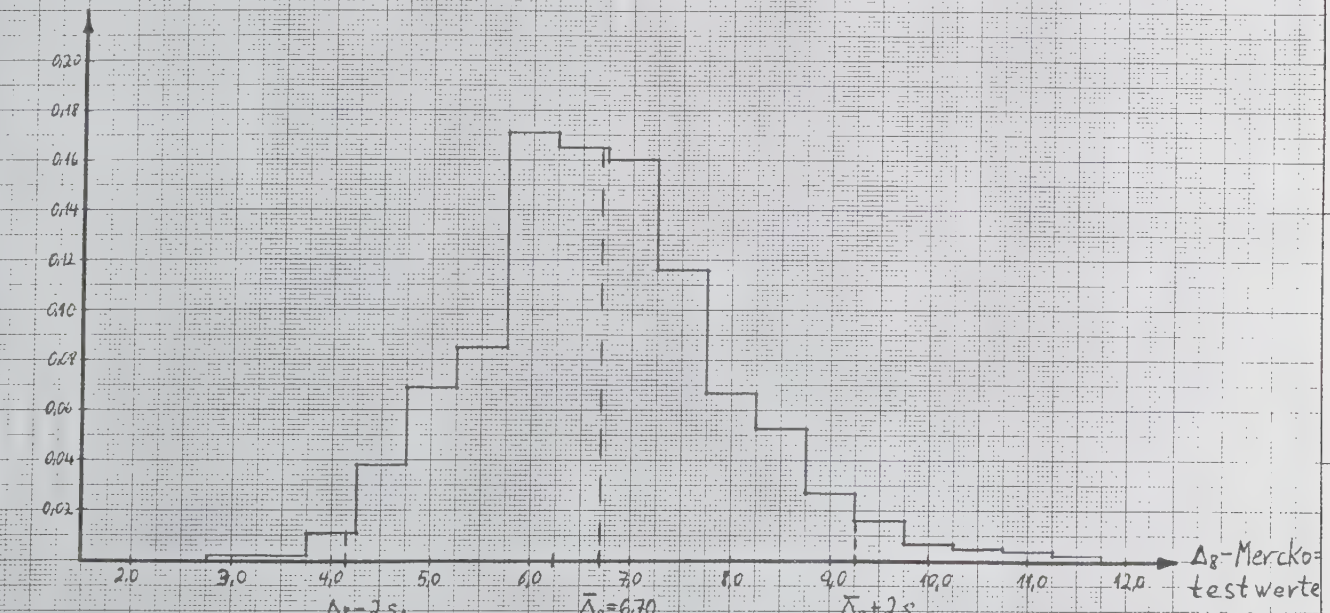

relative Häufigkeit
0,20
0,18
0,16
0,14
0,12
0,10
0,08
0,06
0,04
0,02
2,0
3,0
4,0
5,0
6,0
7,0
8,0
9,0
10,0
11,0
12,0
Δ_8-Merckotestwerte [U*]
$\bar{\Delta}_8 - 2s_{\Delta_8}$
$\bar{\Delta}_8 = 6{,}70$
$\Delta_{8D} = 6{,}22$
$\bar{\Delta}_8 + 2s_{\Delta_8}$

Abb. 13

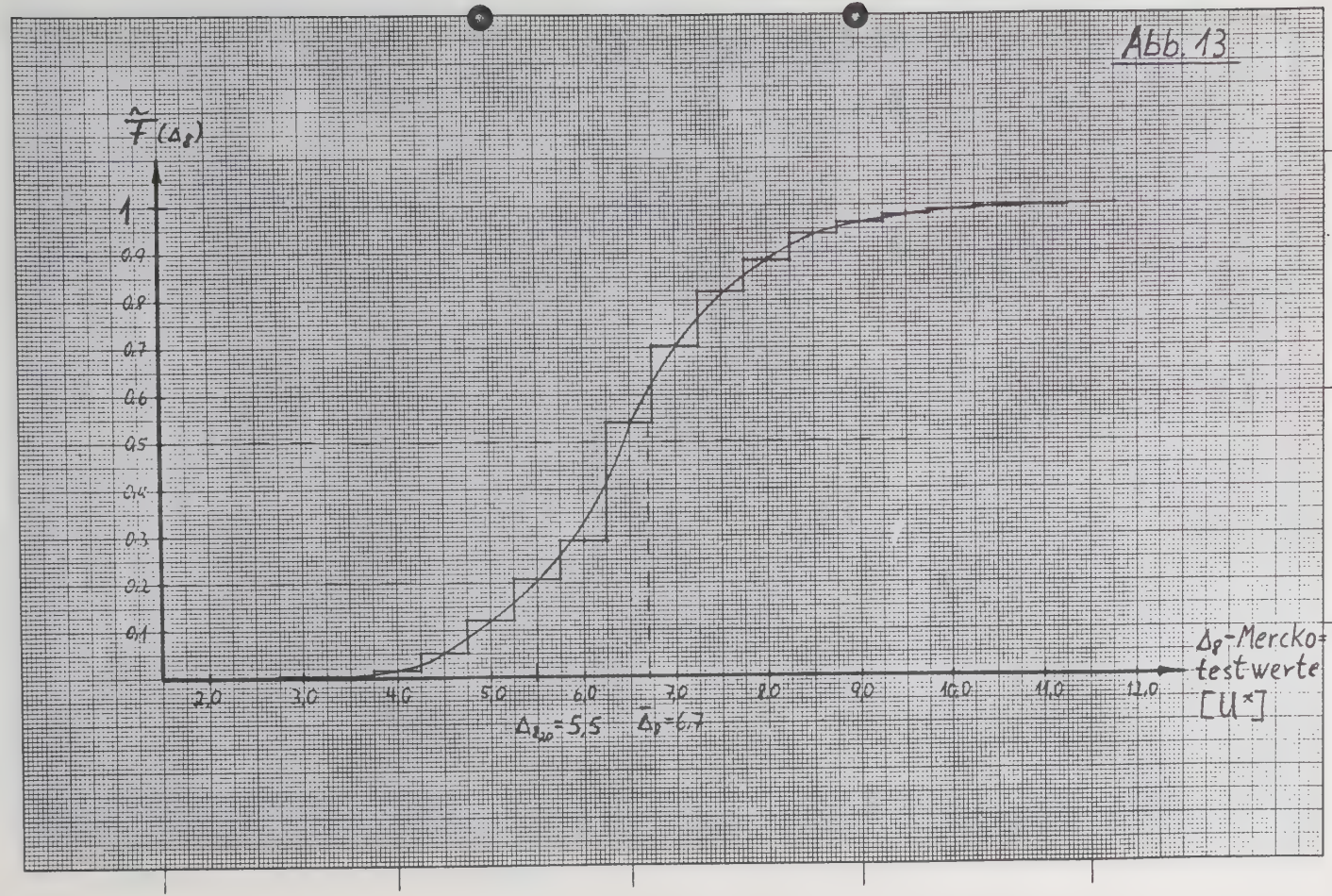

$\tilde{F}(\Delta_g)$
1
0.9
0.8
0.7
0.6
0.5
0.4
0.3
0.2
0.1
2,0
3,0
4,0
5,0
6,0
7,0
8,0
9,0
10,0
11,0
12,0
$\Delta_{g,0} = 5,5$
$\bar{\Delta}_g = 6,7$
Δ_g-Mercko-
test-werte
[U*]

Abb. 14

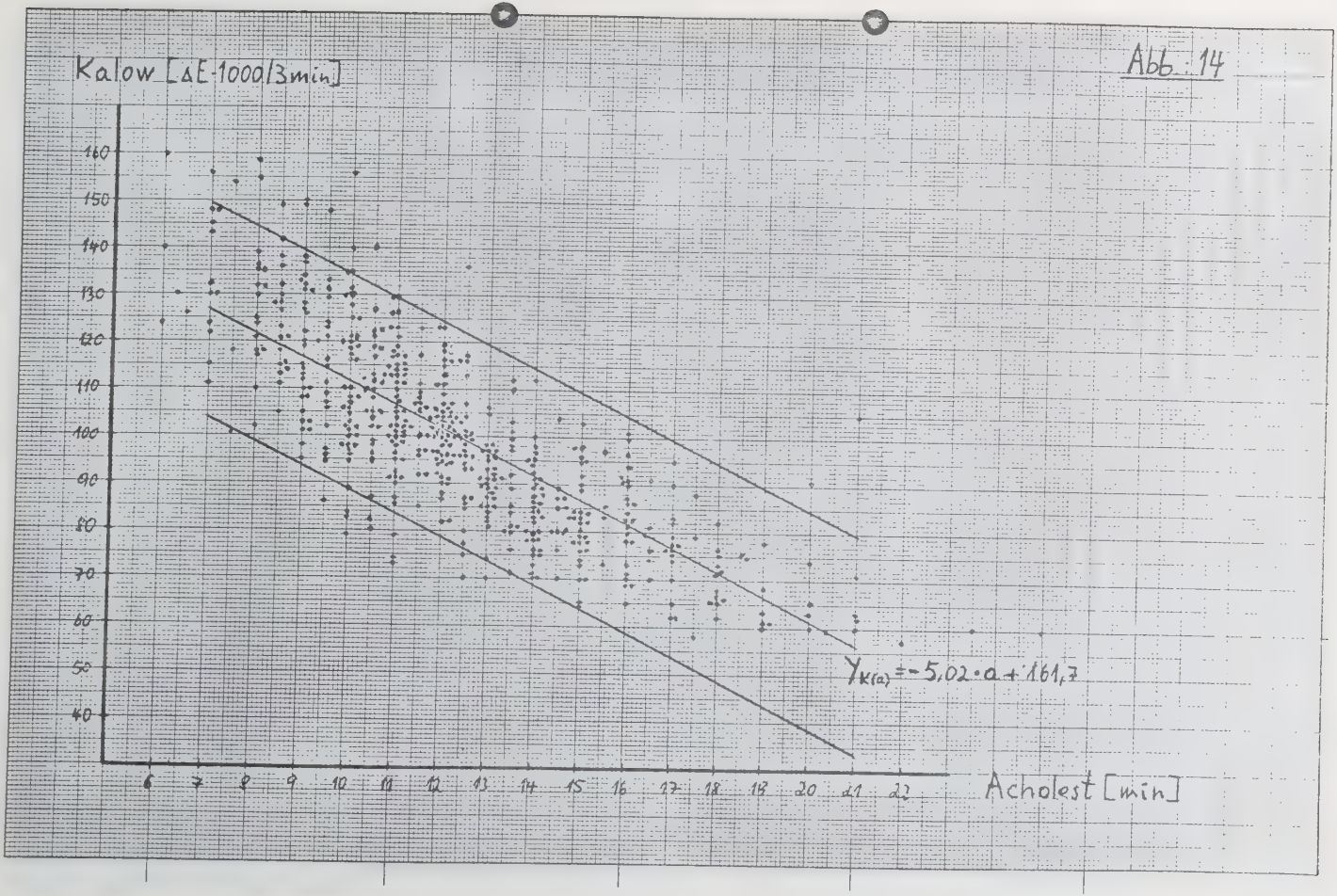
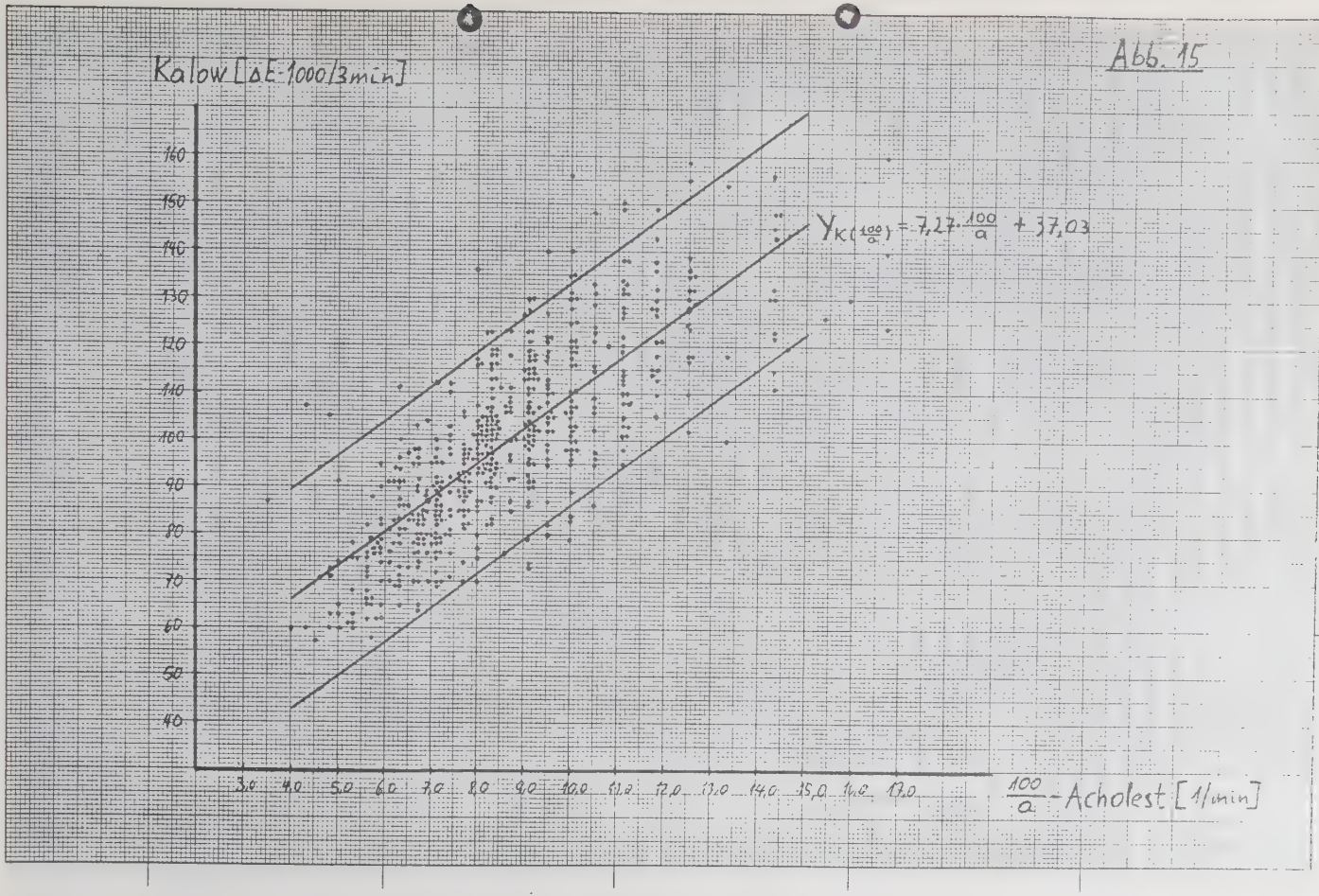
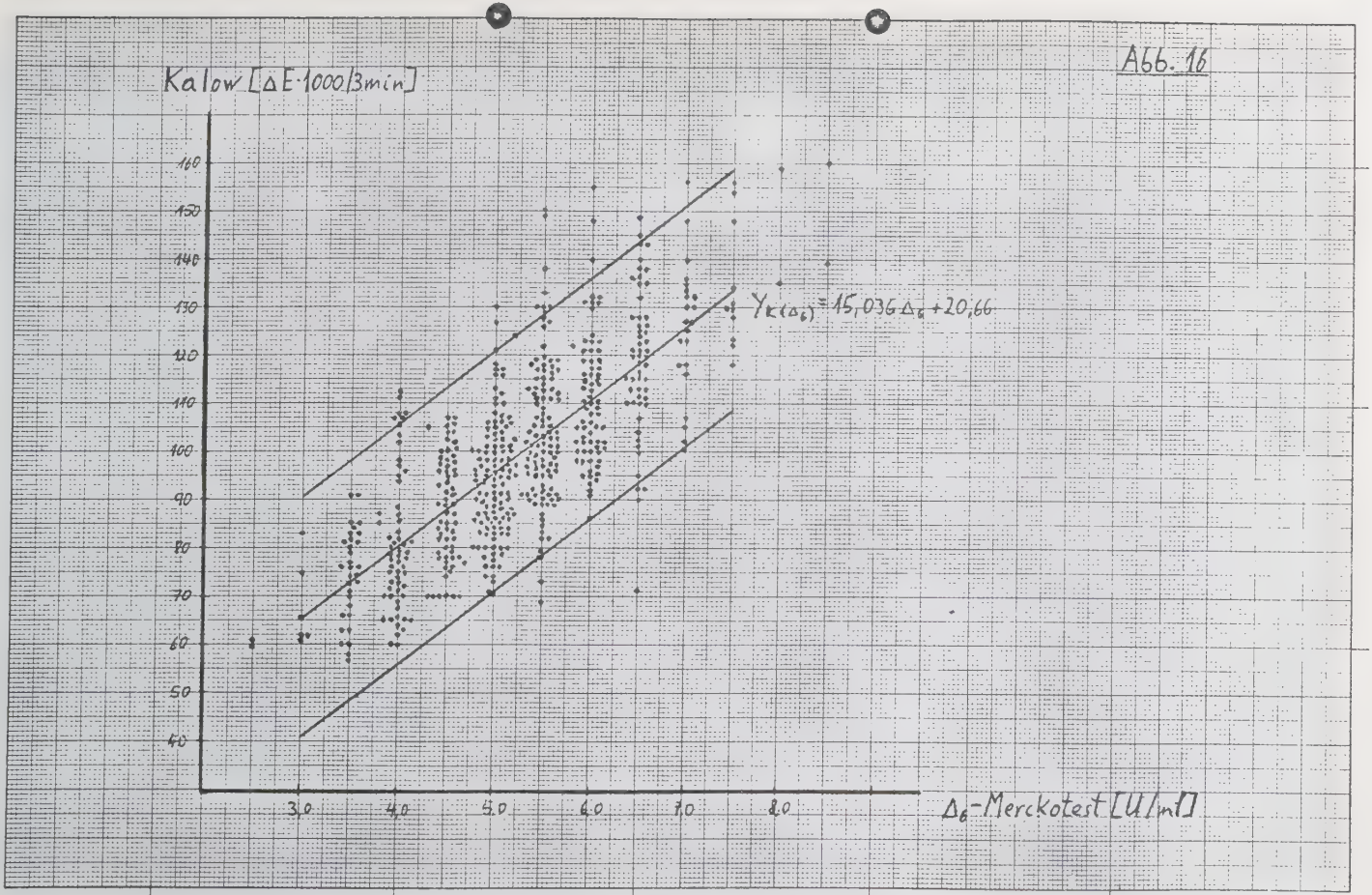

Kalow [ΔE·1000/3min]
160
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
6
7
8
9
10
11
12
13
14
15
16
17
18
19
20
21
22
Acholest [min]
$y_{K(a)} = -5{,}02 \cdot a + 161{,}7$

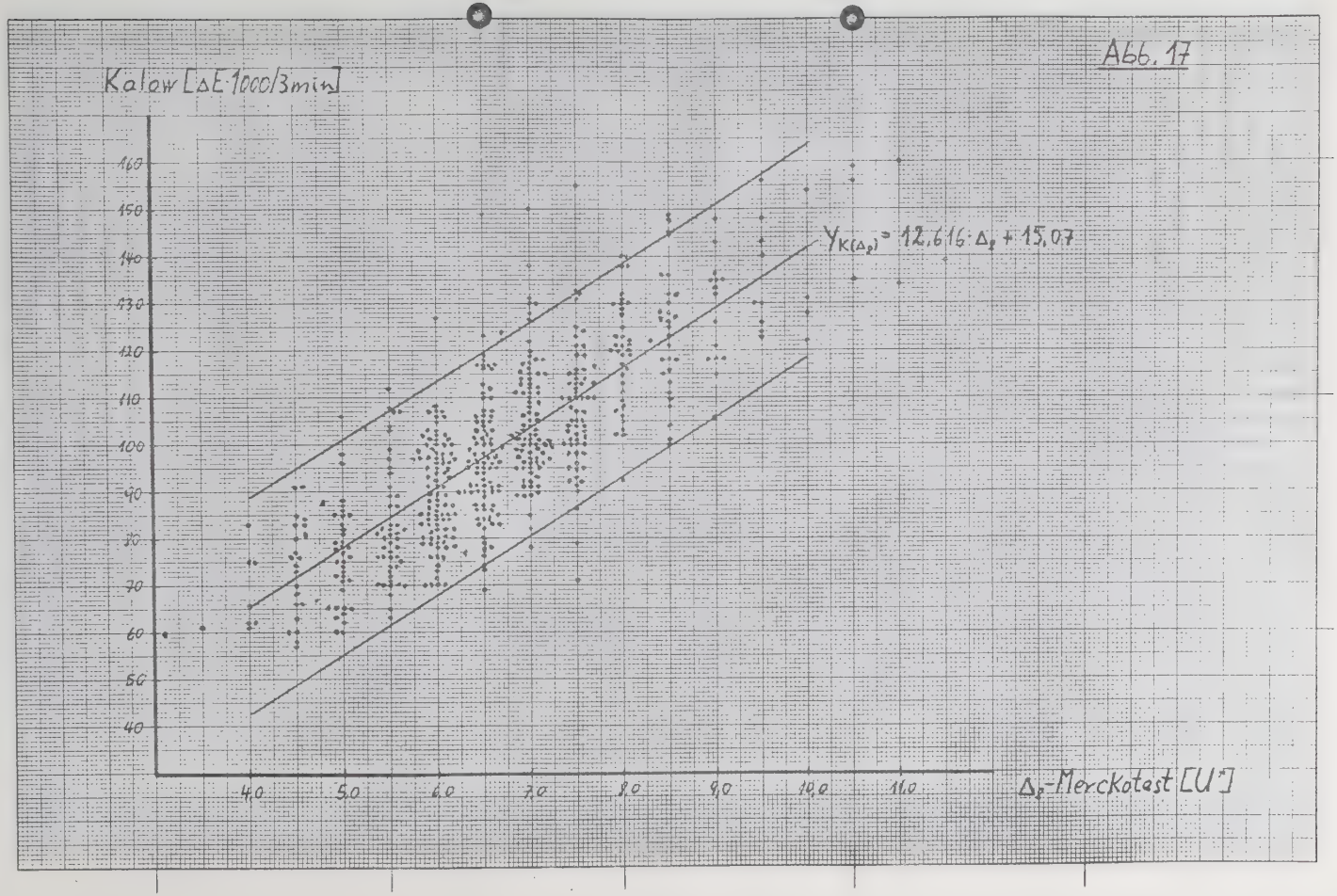
Abb. 15

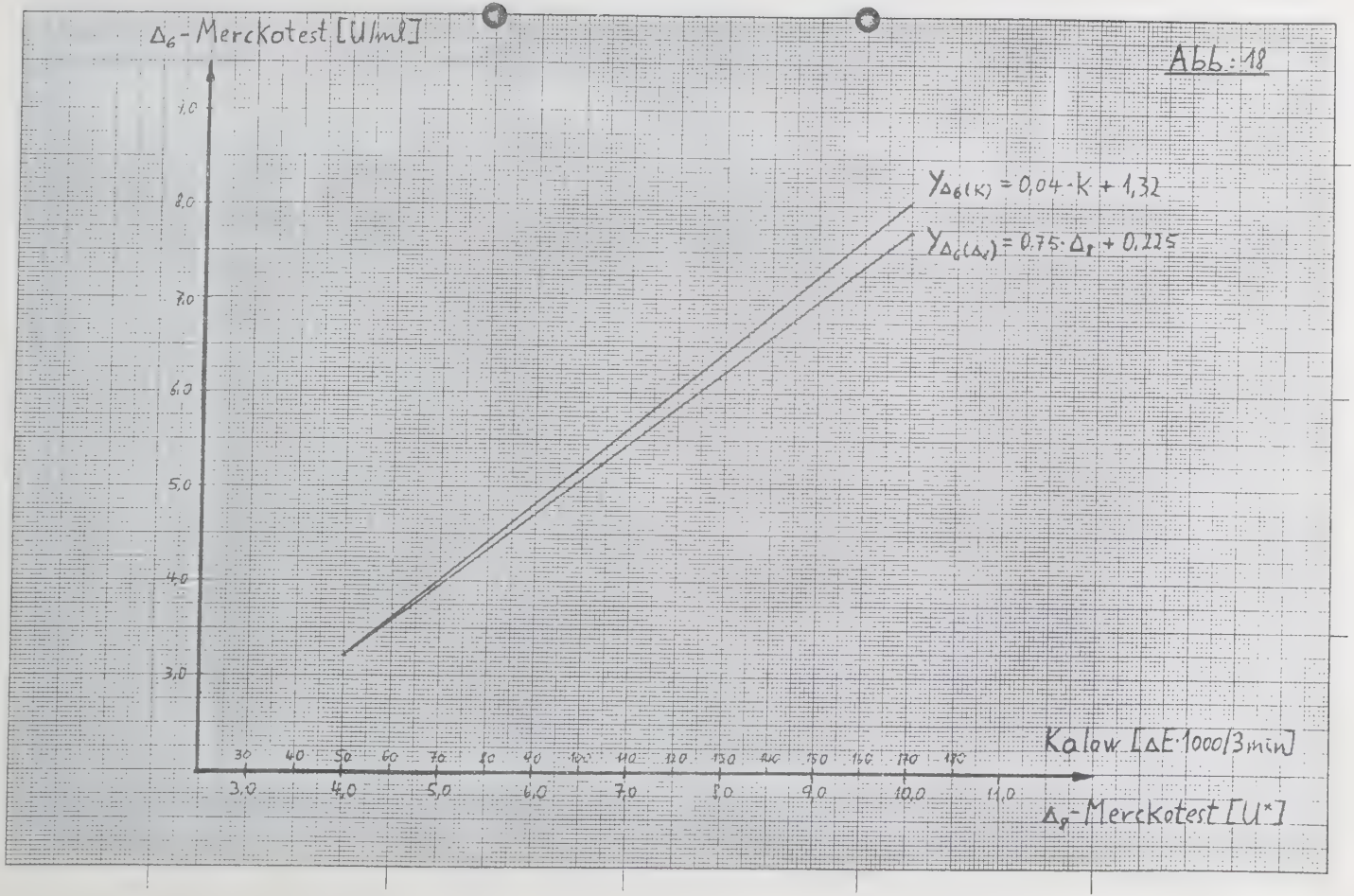

Kalow [ΔE·1000/3min]
160
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
3,0
4,0
5,0
6,0
7,0
8,0
9,0
10,0
11,0
12,0
13,0
14,0
15,0
16,0
17,0
$Y_{K(\frac{100}{a})} = 7{,}27 \cdot \frac{100}{a} + 37{,}03$
$\frac{100}{a}$ - Acholest. [1/min]

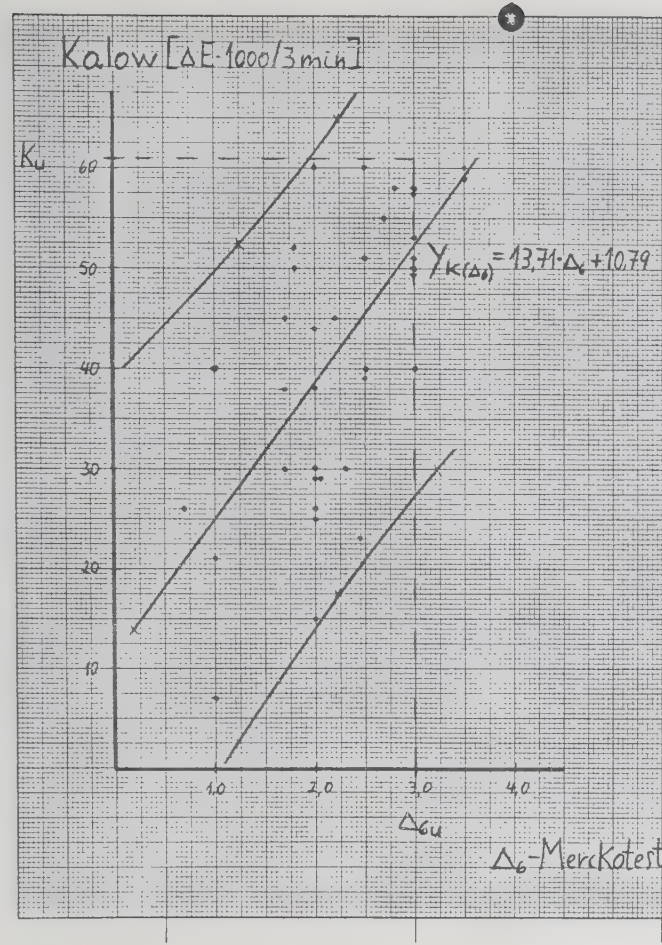
A66.16


Kalow [ΔE·1000/3min]
160
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
$Y_{K(\Delta_6)} = 15{,}036\,\Delta_6 + 20{,}66$
3,0
4,0
5,0
6,0
7,0
8,0
Δ_6-Merckotest [U/ml]

A66.17


Kalow [ΔE·1000/3min]
160
150
140
130
120
110
100
90
80
70
60
50
40
$Y_{K(\Delta_p)} = 12,616 \cdot \Delta_p + 15,07$
4,0
5,0
6,0
7,0
8,0
9,0
10,0
11,0
Δ_p-Merckotest [U]


Δ6 - Merckotest [U/ml]
Abb.: 18
Y Δ6(K) = 0,04 · K + 1,32
Y Δ6(Δ1) = 0,75 · Δ1 + 0,225
1,0
8,0
7,0
6,0
5,0
4,0
3,0
30 40 50 60 70 80 90 100 110 120 130 140 150 160 170 180
3,0 4,0 5,0 6,0 7,0 8,0 9,0 10,0 11,0
Kalow [ΔE·1000/3min]
Δ1 - Merckotest [U*]


Kalow [ΔE·1000/3min]
Ku
60
50
40
30
20
10
$Y_{K(\Delta_6)} = 13{,}71 \cdot \Delta_6 + 10{,}79$
1,0
2,0
3,0
4,0
Δ_{6u}
Δ_6-Merckotest [U/ml]

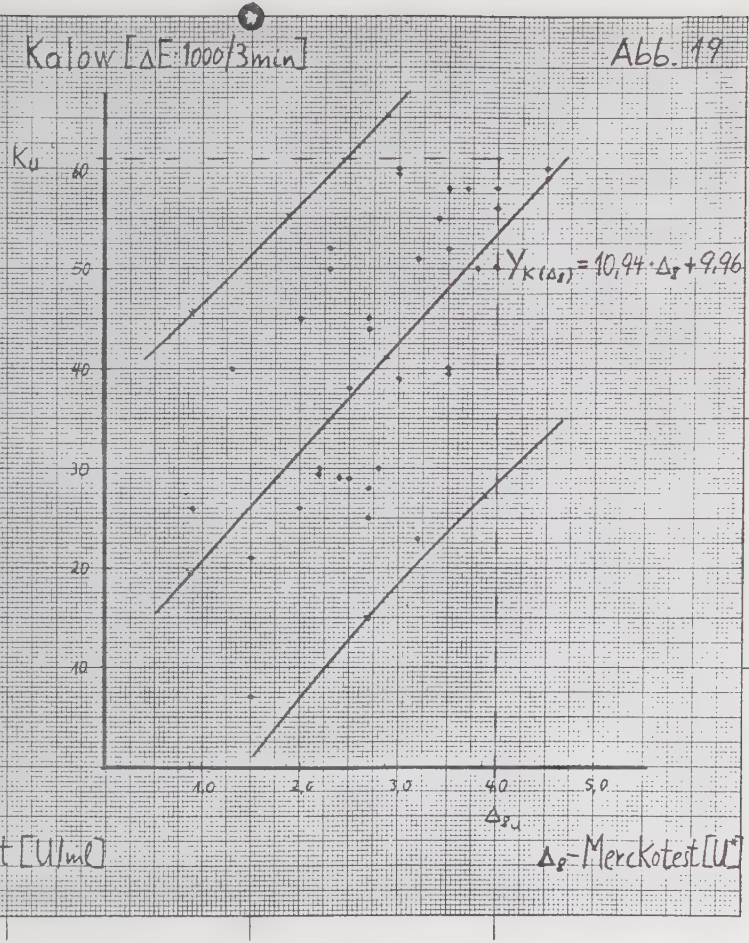
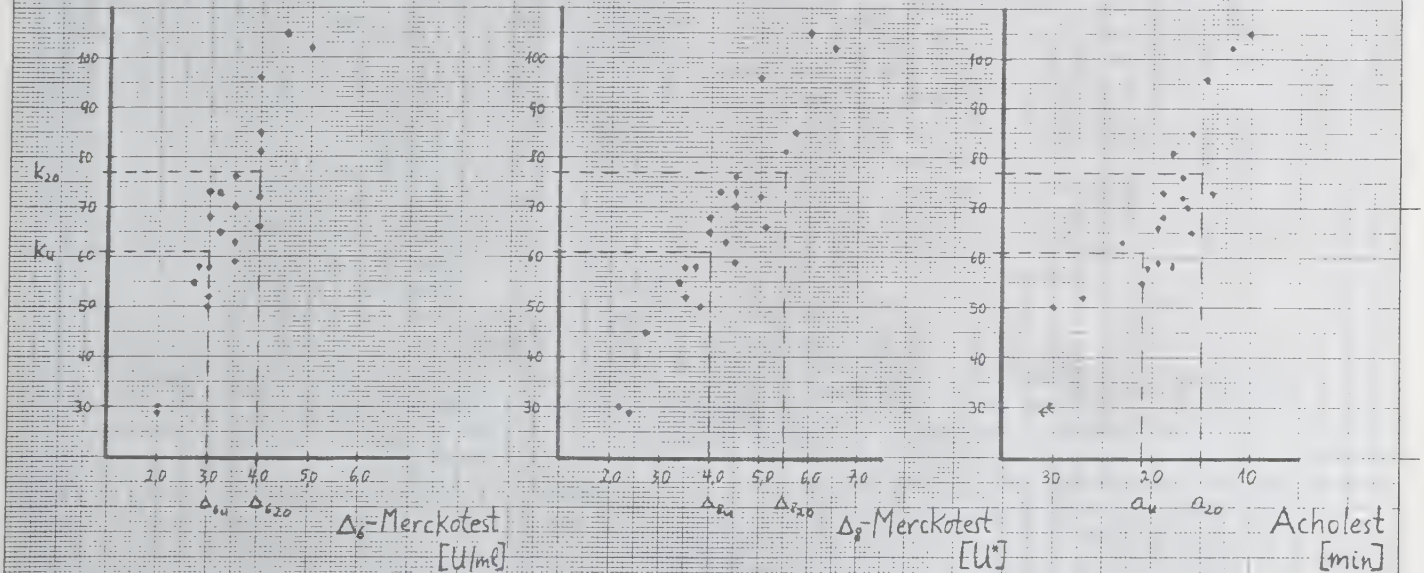

Kalow [ΔE·1000/3min]
Ku
60
50
40
30
20
10
$Y_{K(\Delta_8)} = 10{,}94 \cdot \Delta_8 + 9{,}96$
1,0
2,0
3,0
4,0
5,0
Δ_{8u}
Δ_8-Merckotest [U]

Abb. 20


Kalow [ΔE·1000/3min]
100
90
80
70
60
50
40
30
K_{20}
K_4
2,0
3,0
4,0
5,0
6,0
Δ_{64}
Δ_{620}
Δ_6-Merckotest
[U/ml]
100
90
80
70
60
50
40
30
2,0
3,0
4,0
5,0
6,0
7,0
Δ_{84}
Δ_{820}
Δ_8-Merckotest
[U*]
100
90
80
70
60
50
40
30
30
20
10
a_4
a_{20}
Acholest
[min]

Herrn Privatdozenten Dr. med. A. Doenicke danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und für die stets hilfreiche Unterstützung bei der Bearbeitung.

Fräulein J. Krumey danke ich für ihre wertvolle Hilfe bei der Durchführung der experimentellen Messungen.

Herrn Professor Dr. med. F. Holle darf ich für die Möglichkeit, die Untersuchungen an seiner Klinik durchzuführen, sowie für die Übernahme des Korreferates ergebenst danken.

L e b e n s l a u f

Am 23. Januar 1941 wurde ich als Sohn des Drogisten Alex Ahlemeyer und seiner Ehefrau Käthe, geb. Thobaben, in Hannover geboren.

Die Volksschule besuchte ich in Sanddamm, Kreis Bremervörde, und in Hannover. Anschließend ging ich in Hannover auf ein mathematisch-naturwissenschaftliches Gymnasium und legte dort am 17. Februar 196o die Reifeprüfung ab.

Nach dem Abitur studierte ich vom Sommersemester 196o bis Sommersemester 1962 Mathematik und Physik an den Universitäten Kiel und Hamburg.

Das Studium der Humanmedizin begann ich im Wintersemester 1962/63 an der Universität Bonn und bestand dort die ärztliche Vorprüfung am 28. April 1965. Anschließend studierte ich Medizin in Heidelberg und München. An der Universität München beendete ich am 13. August 1968 mein Studium mit dem Staatsexamen.

Seit dem 1. Oktober 1968 arbeite ich als Medizinalassistent an der I. Chirurgischen Klinik in Augsburg.